

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS  
NATIONAL BOARD OF PATENTS AND REGISTRATION

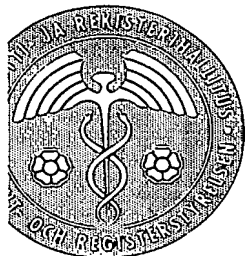
Helsinki 25.10.2004

1504/05433

REC'D 22 NOV 2004

WIPO PCT RO/IB

ETUOIKEUSTODISTUS  
PRIORITY DOCUMENT



Hakija  
Applicant

Bio-Nobile Oy  
Masku

Patenttihakemus nro  
Patent application no

20040159

Tekemispäivä  
Filing date

02.02.2004

Etuoikeushak. no  
Priority from appl.

FI 20031535

Tekemispäivä  
Filing date

20.10.2003

Kansainvälinen luokka  
International class

B03C

Keksinnön nimitys  
Title of invention

"Magneettinen siirtomenetelmä, mikropartikkelien siirtolaite, ja reaktioyksikkö"

Täten todistetaan, että oheiset asiakirjat ovat tarkkoja jäljennöksiä Patentti- ja rekisterihallitukselle alkuaan annetuista selityksestä ja piirustuksista.

This is to certify that the annexed documents are true copies of the description and drawings originally filed with the Finnish Patent Office.

  
Pirjo Kaila  
Tutkimussihteeri

**PRIORITY  
DOCUMENT**

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

Maksu 50 €  
Fee 50 EUR

Maksu perustuu kauppa- ja teollisuusministeriön antamaan asetukseen 1027/2001 Patentti- ja rekisterihallituksen maksullisista suoritteista muutoksineen.

The fee is based on the Decree with amendments of the Ministry of Trade and Industry No. 1027/2001 concerning the chargeable services of the National Board of Patents and Registration of Finland.

Osoite: Arkadiankatu 6 A Puhelin: 09 6939 500  
P.O.Box 1160 Telephone: + 358 9 6939 500  
FIN-00101 Helsinki, FINLAND

Telefax: 09 6939 5328  
Telefax: + 358 9 6939 5328

BEST AVAILABLE COPY

# MAGNEETTINEN SIIRTOMENETELMÄ, MIKROPARTIKKELIEN SIIRTOLAITE, JA REAKTIOYKSIKKÖ - MAGNETIC TRANSFER METHOD, A DEVICE FOR TRANSFERRING MICROPARTICLES AND A REACTOR UNIT

## 5 KEKSINNÖN KOHDE

Keksinnön kohteena on magneettinen siirtomenetelmä.

## KEKSINNÖN TAUSTA

10 Magneettisella siirtomenetelmällä tarkoitetaan kaikkea magnetismin avulla hiukkasten (engl. particles) liikkeisiin liittyvää toimintaa, kuten esimerkiksi hiukkasten lajittelamista, keräämistä, siirtämistä, sekoittamista tai annustelua samassa nesteessä tai nesteestä toiseen.

15 Hiukkasilla, mikropartikkeleilla (engl. micro particles) tai magneettipartikkeleilla (engl. magnetic particles) tarkoitetaan kaikkia sellaisia pieniä hiukkasia, joiden halkaisija on pääasiassa mikrometrialueella, ja joita voidaan liikuttaa magnetismin avulla. Tunnettuja magneetin avulla siirrettäviä hiukkasia on paljon erilaisia ja sovellukset, joissa niitä käytetään vaihtelevat myös paljon. Esimerkiksi mikrobiologiassa käytettävien hiukkasten 20 koko on yleensä 0,01-100 µm, tavallisimmin 0,05-10 µm. Tunnettuja tällaisia hiukkasia ovat esimerkiksi ferromagneettista, paramagneettista tai supramagneettista materiaalia sisältävät hiukkaset. Hiukkaset voivat olla myös itsessään magneettisia, jolloin niitä voidaan liikuttaa minkä tahansa ferromagneettisen kappaleen avulla.

25 Mikropartikkellen käsittelyyn tarkoitettu laitteessa on magnetismia hyväksi käyttävä elin, josta on seuraavassa käytetty nimitystä magneetti. Se voi olla kestmagneetti tai sähkömagneetti, joka vetää ferromagneettisia hiukkasia puoleensa, tai ferromagneettinen kappale, joka ei itse ole magneettinen, mutta vetää silti magneettisia hiukkasia puoleensa.

30 Magneetti on tavallisesti edullisimmin pyöreä tankomagneetti. Se voi olla myös muun muotoinen tanko. Magneetin ei kuitenkaan tarvitse olla lanko lainkaan. Se voi olla myös lyhyt ja leveä, tai minkä muotoinen kappale tahansa. Magneetti voi myös olla muodostettu yhdestä tai useammasta kappaleesta, kuten magneeteista tai ferromagneettisista kappaleista.

35 Magneetin päällä on oltava suoja, joka suojaa magneettia erilaisilta haitallisilta olosuhteilta ja mahdollistaa mikropartikkellen käsittelyn, kuten sitomisen ja vapauttamisen.

Suojuksen rakenne voi vaihdella suuresti, sillä se voi olla esimerkiksi joustavaa tai venyvää materiaalia oleva ohut kalvo tai vaikka kovamuovia oleva kuppi.

Yleisesti mikropartikkeleita käytetään kiinteänä faasina (engl. solid phase) sitomaan erilaisia biomolekyylejä, soluorganelleja, bakteereja tai soluja. Mikropartikkeleiden pinnalle voidaan myös immobilisoida esimerkiksi entsyymejä, jolloin entsyymien käsittely ja jatkokäyttö on tehokasta. Useimmat nk. magneettiset nanopartikkelit ( $< 50$  nm) eivät sovellu tavallisilla kestopagneeteilla tai sähkömagneeteilla käsiteltäviksi vaan vaativat erityisen voimakkaan magneettigradientin käyttämistä, kuten on esitetty julkaisussa EP 0842704 (Miltényi Biotech). Tavallisilla kesto- ja sähkömagneeteilla voidaan tavallisesti käsitellä magneettipartikkeleita, kuten mikropartikkeleita, jotka ovat noin  $0,1 \mu\text{m}$  tai suurempia halkaisijaltaan. Näytteen viskositeetti voi myös vaikeuttaa partikkeleiden poimimista merkittävästi. Kerättävät partikkelit voivat olla alunperin suspendoitu liuon nestemäärään, josta halutaan sitoa tutkittavaa ainetta tai vaikkapa soluja hiukkasten pinnalle. Erityisen tärkeää on voida käyttää isoja lähtötilavuuksia sovelluksissa, joista vähälukuiset komponentit halutaan saada eristettyä analysointia varten. Esimerkiksi patogeenisten bakteerien tehokas rikastaminen suuresta näytetilavuudesta pieneen on kriittinen koska vaikuttaa suoraan määrityksen herkkyyteen ja analyysiaikaan. Tällä hetkellä ei ole olemassa riittävän tehokasta tapaa tehdä mikropartikkeliin avulla konsentrointia suuresta tilavuudesta pieneen tilavuuteen. Edullista olisi se, että edellä kuvatun kaltainen suoritus olisi mahdollisimman yksinkertainen ja tehokas.

#### TEKNIIKAN TASO

Magneetin avulla käsiteltäviä mikropartikkeleita on käytetty jo 1970-luvulta lähtien. Tämä teknologia tuli hyvin suosituksi muun muassa immunomäärityksissä. Mikropartikkeliin käyttämisellä immunomäärityksissä sitoutuneen antigeeni-vasta-aine kompleksin erottamiseksi vapaasta fraktiosta tarjosi merkittävän edun erityisesti reaktionopeudessa. Pääasiallinen kehitys mikropartikkeliin hyväksikäytössä on viimeisten vuosien aikana tapahtunut molekyylibiologian, mikrobiologian ja solubiologian alueilla.

Perinteisessä menetelmässä reaktioliuoksessa olevat magneettipartikkelit, kuten mikropartikkelit vangitaan astian ulkopuolisen magneetin avulla tiettyyn kohtaan putken sisäseinään. Tämän jälkeen liuos yritetään varovaisesti poistaa magneettipartikkeliin ympäriltä. Perinteisessä menetelmässä käsitellään aktiivisesti nestettä ja magneettipartikkelit pysyvät samassa astiassa koko suorituksen ajan.

- Toisessa lähestymistavassa käytetään magneettia aktiivisesti siirtämään mikropartikkeleita. Magneetti työnnetään mikropartikkeleita sisältävään liuokseen, jolloin magneetti vetää puoleensa liuoksessa olevia mikropartikkeleita ja ne muodostavat kiinteän saostuman. Tämän jälkeen magneetti ja mikropartikkelit voidaan nostaa pois nesteestä.
- 5 Magneetti partikkeleineen voidaan lämmän jälkeen upottaa toisessa koeputkessa olevaan nesteeseen, jonne mikropartikkelit voidaan irrottaa magneetista. Tässä menetelmässä liuosten käsittely, pipetoinnit ja imuvaiheet (engl. aspiration phases) on minimoitu äärimmilleen.
- 10 Patenttijulkaisussa US 2,517,325 (Lamb) kuvataan ratkaisu metalliesineiden poimimiseksi magneetin avulla. Julkaisussa kuvataan pilkku sauvamagneetti, jota liikutetaan rautaputken sisällä. Sauvamagneetin navat ovat fyysisen magneetin pituusakselin vastaisissa päissä. Liikuttamalla magneettia rautaputkessa sisäänpäin, voidaan magneettikenttää pienentää. Vastaavasti magneettia liikuttamalla ulos rautaputkesta magneettikenttää voimistuu.
- 15 Julkaisussa kuvataan ratkaisu, jolla voidaan kerätä metalliesineitä magneettityksikön karkkiosaan. Julkaisussa kuvataan myös kiinteä muovisuojaja, jolla magneetti voidaan suojata.
- Patenttijulkaisussa US 2,970,002 (Laviano) kuvataan ratkaisu metalliesineiden
- 20 keräämiseksi nesteistä magneetin avulla. Julkaisussa kuvataan pitkä kestopagneetti, joka kerää partikkeleita magneettityksikön karkkiosaan. Magneetti on kiinni metallitangossa ja suojattu erillisellä muovisuojalla. Julkaisussa esitetään kestopagneetin liikuttamisen ja magneetin suojana käytettävän muovisuojan yhteiskäyttöä. Julkaisussa kuvataan metalliesineiden kerääminen magneettityksikön karkkiosaan ja metalliesineiden vapautus
- 25 suojan päältä erityisen muovisuojan muotoilun avulla.
- Patenttijulkaisulissa US 3,985,649 (Eddelman), US 4,272,510 (Smith et al.), US 4,649,116 (Daty et al.), US 4,751,053 (Dodin et al.) ja US 5,567,326 (Ekenberg et al.) kuvataan ratkaisuja, joissa kaikissa magneetilla kerätään magnetoitavaa materiaalia suoraan
- 30 liuoksesta. Näille julkaisuille on yhteistä myös se, että magneetit eivät ole suojattu erillisillä muovisuojilla. Näissä ratkaisulissa edellytetään magneettikärjen pesua ennen seuraavan näytteen käsittelyä kontaminaatiotiskin ja epäpuhtauksien siirtymiseffektin (engl. carry-over effect) poistamiseksi.
- 35 Patenttijulkaisussa US 5,288,119 (Crawford, Jr. et al.) kuvataan ratkaisu, jolla voidaan kerätä metalli-esineitä magneetin avulla. Julkaisun mukaisen laitteen magneettia ei ole suojattu erityisellä suojalla eikä se sovellu metalliesineiden poimimiseen nesteistä.

Julkaisussa kuvataan ratkaisu suurempien metalliesineiden poimimiseksi. Julkaisussa on esitetty pitkä sauvamagneetti, jota liikutetaan ei-magneettiseen putken sisällä. Tämän putken erityisominaisuus on se että se toimii magneettikentän estäjänä (engl. blocking) vaikka se ei ole magneettinen. Julkaisussa esitetään vaihtoehtoisina materiaaleina tähän  
 5 tarkoitukseen esimerkiksi vismutti tai lyijy tai niiden seos. Ratkaisun mukaisen laitteen magneetti ei ole suojattu erityisellä suojalla eikä se sovellu metalliesinöiden poimimiseen nestelstä.

Hakemusjulkaisussa WO 87/05536 (Schröder) kuvataan muovisuojan sisällä liikuteltavan  
 10 kestopagneetin käyttöä ferromagneettisen materiaalin keräämiseksi siitä sisältävästä luoksesta. Magneetin ollessa ala-asennossa ferromagneettinen materiaali kerääytyy magneettisyksikön kärkeen. Julkaisussa kuvataan näin kerätyn ferromagneettisen materiaalin siirtäminen toisessa astiassa olevaan luokseen ja materiaalin vapauttaminen kärkeästä sinne. Ferromagneettisen materiaalin vapauttaminen kuvataan suoritettavaksi  
 15 muovisuojan muotoilun avulla, joka estää materiaalia liikkumasta magneettia liikuttaessa ylöspäin.

Patenttijulkaisussa US 5,837,144 (Bienhaus et al.) kuvataan menetelmä, mikropartikkelien keräämistä erityisen muovisuojaalla varustetun magneetin avulla. Tässä julkaisussa  
 20 kuvataan mikropartikkelien siirto luoksesta, joka johdetaan astiasta pois erilaisin järjestelyin. Magneettia liikuttamalla voidaan mikropartikkelit saada vapautumaan suojakalvon päältä.

Patenttijulkaisulissa US 5,942,124 (Tuunanen), US 6,020,211 (Tuunanen), US 6,040,192  
 25 (Tuunanen), US 6,065,605 (Korpela et al.) ja US 6,207,463 (Tuunanen) ja sekä patenttijulkaisussa US 20010022948 (Tuunanen) kuvataan myös muovisuojaalla varustettuja laitteita mikropartikkelien keräämiseksi luoksesta ja siirtämiseksi toiseen luokseen. Näissä julkaisulissa kuvataan pääasiallisesti ratkaisuja, joiden tarkoituksena on käsitellä mikropartikkeleita erittäin pienissä tilavuuksissa. Julkaisussa US 5,942,124  
 30 (Tuunanen) kuvataan laite, jolla mikropartikkelit voidaan konsentroida aivan magneettisyksikön kärkeen. Julkaisussa US 6,020,211 (Tuunanen) kuvataan edellisessä julkaisussa esiteltyä laitetta käytettäväksi yhdessä suuren nk. perinteisen magneetin avulla kerättyjen mikropartikkelien siirtämiseen pienempiin astioihin. Julkaisussa US 6,040,192 (Tuunanen) kuvataan automatisoitu menetelmä mikropartikkelien käytöstä spesifisissä  
 35 määrityksissä ja pienten tilavuuksien käsittelyssä. Julkaisussa US 6,065,605 (Korpela et al.) jatketaan edelleen julkaisussa US 5,942,124 (Tuunanen) kuvatun ratkaisun soveltamista suurehkojen tilavuuksien käsittelyyn. Nyt kuvataan menetelmä, jossa

- mikropartikkelit on ensin kerätty erityisellä ison magneetin sisältävällä magneettiyksiköllä. Tämän jälkeen käytetään julkaisussa US 5,942,124 (Tuunanen) kuvattua magneettiyksikköä siirtämään mikropartikkelipellelli eteenpäin pienempiin astioihin. Julkaisussa US 6,207,463 (Tuunanen) samaten sovelletaan edellä kuvattua
- 5 magneettiyksikköä, jolla voidaan kerätä mikropartikkeleita aivan laitteen kärkeen. Hakemusjulkaisu US 20010022948 (Tuunanen) kuvaa myös erittäin pienen mikropartikkelimäärän käsittelyä erityisissä sille suunnitelluissa astioissa.
- Patenttijulkaisussa US 6,403,036 (Heemann) kuvataan laite, jossa on muovisuoja ja
- 10 erityiseen tankoon kiinnitetty kestopagneetti. Mikropartikkelit kerätään muovisuojan kärkeen ja menetelmä on erityisesti tarkoitettu pienten tilavuuksien käsittelyyn. Tangossa on erityinen ulkoneva osa, jonka avulla magneetti ja tanko pysyy paikallaan suojaputkessa.
- Patentissa FP 1058851 (Korpela) ja hakemusjulkaisussa WO 01/60967 (Korpela)
- 15 kuvataan laitteita, joissa on venyvä elastomeerinen suojakalvo. Näissä ratkaisuissa mikropartikkelit kerätään venyvän suojakalvon pinnalle, josta ne edelleen voidaan siirtää toiseen astiaan. Magneetin suojakalvo on tehty venyvästä materiaalista, jolloin kalvo on venyneenä mahdollisimman ohut. Näin aikaansaadaan mahdollisimman pieni etäisyys magneetista nesteeseen.
- 20 Patenttijulkaisussa US 6,610,077 (Davis et al.) kuvataan erityisen sisäputken ja ulkoputken yhteiskäyttöä suoritettaessa spesifisiä immunomäärityksiä. Julkaisussa kuvataan erityisen sisäputkijärjestelyn avulla suoritettavia immunomäärityksiä koeputkessa tai mikrotitittilevyn eli mikrolevyn kuopassa pienellä nestetilavuudella. Kyselyllä
- 25 putkijärjestelyllä voidaan koeputkessa tai mikrolevyn kuopassa olevan pienen nestetilavuuden nestepintaa nostaa ja näin saada aikaan putken reaktiivisen pinnan suureneminen ja liuoksentehokas sekoitus. Julkaisussa ei mainita mikropartikkeleita eikä konsentrointia suuresta nestetilavuudesta pienen nestetilavuuteen.
- 30 Missään edellä kuvatuissa patenteissa ei ole kuvattu menettelyä, jolla voitaisiin tehokkaasti kerätä erittäin suurista nestetilavuuksista mikropartikkeleita ja vapauttaa kerätyt partikkelit pienempään nestetilavuuteen. Varsinkaan ei ole kuvattu realistista tapaa kerätä suurta mikropartikkelimäärää suuresta nestetilavuudesta. Edellä mainituissa julkaisuissa kuvataan enimmäinsinkin pienetilatavuuksien, kuten 5-10 ml
- 35 käsittelyä, ja erittäin pienten nestetilavuuksien käsittelyä. Jos halutaan siirtää proteiineja, peptiidejä, nukleiinihappoja, soluja, bakteereja, viruksia tai muita komponentteja isosta tilavuudesta mikropartikkelien pinnalle on olemassa tiettyjä perusedellytyksiä käytettävälle

optimaaliselle partikkelimäärälle. Riippuen käytettävistä mikropartikkelaista, edullinen hiukkasten määrä eristettävää nestemillilitraa kohti voi olla esimerkiksi vähintään  $10^7$  kpl esimerkiksi 1-5  $\mu\text{m}$  halkaisijaltaan olevia mikropartikkeleita. Tarvittavien hiukkasten määrä kasvaa edelleen, jos tietyistä yksikkötilavuudesta halutaan saada mahdollisimman

5 luotettavasti sidotuksi haluttu, erittäin harvalukuinen komponentti.

Varsinkin julkaisuissa US 5,942,174 (Tuunanen), US 6,020,211 (Tuunanen), US 6,065,605 (Korpela et al.), ja US 6,207,463 (Tuunanen) ja EP 0 787 296 (Tuunanen) kuvatun mikropartikkeleita on tarkoitus kerätä suurehkosta astiasta suuri määrä erittäin pienellä

10 magneetilla hyvin terävän ja kapean sauvan pieneen kärkiosuuteen, on epäkäytännöllinen.

Suurta määrää mikropartikkeleita ei voida siirtää pieneen tilavuuteen pienen pisteen ympärillä, koska mikropartikkellimassan muodostaman pelletin fyysiset mitat kasvavat nopeasti käsiteltävän nestetilavuuden myötä. Suuri mikropartikkolimassa pitää olla

15 kerättyinä joko isolle alueelle tai erityiseen syvennykseen.

#### KEKSINNÖN TARKOITUS

Tämän keksinnön tarkoituksena on aikaansaada menetelmä ja laite, jolla ei ole edellä esiteltyjä epäkohtia. Keksinnön mukaiselle magneettiselle siirtomenetelmälle on

20 tunnusomaista se, että

Keksintö liittyy nimenomaan mikropartikkeliin aktiiviseen keräykseen ja siirtelyyn nesteestä toiseen. Menetelmää voidaan erityisesti käyttää aulomaallisessa laitteistossa, jossa voidaan suorittaa erilaisia mikropartikkeleiden siirtoja, pesuja ja inkubointeja.

25 Automaattiseen laitteistoon on mahdollista yhdistää yksiköitä, joiden tarkoituksena on esimerkiksi PCR-reaktioiden tai erilaisten leimojen detektio.

#### KEKSINNÖN MUKAINEN SIIRTO LAITE

Keksinnön kohteena on myös mikropartikkeliin siirtolaite.

30

Keksinnön mukaisen laitteen keskeinen tekninen ominaisuus on se, että magneettikentän voimakkuutta ja kohdistusta suhteessa magneettia ympäröivään suojakalvoon voidaan säädellä. Tämä voidaan toteuttaa liikuttelemalla magneettia ferromagneettisessa putkessa siten, että se voi olla kokonaan putken sisällä, jolloin magneetin teho on mitätön tai

35 olematon, tai se voi olla osittain tai kokonaan putken ulkopuolella, jolloin magneetin teho ja keräyspinta ovat suhteessa magneetin ulkonevaan osaan. Yhdistämällä nämä

ominaisuudet magneettipartikkulien siirtämiseen sopivan kokoisiin astioihin aikaansaamaan erittäin tehokas keräys- ja konsentroititapahtuma.

- Putki voi olla tehty raudasta tai muusta sopivasta materiaalista, jonka magneettiset ominaisuudet ovat sopivia estämään magneettivuota pääsemästä putken läpi. Magneetin tehoa voidaan säädellä muuttamalla magneetin paikkaa ferromagneettisen putken suhteen, että osa magneetista on putken sisällä. Vaihtoehtoisesti magneettia voidaan pittää paikallaan ja ferromagneettista putkea liikutetaan suhteessa magneettiin. Magneetti on kiinnitetty tankoon, joka voi olla ferromagneettinen tai ei ole ferromagneettinen, ja jonka avulla magneettia voidaan liikuttaa ferromagneettisessa putkessa.

Keksinnössä mainittava ferromagneettisen putken ominaisuuksia ja etuja ovat ainakin seuraavat:

1. Putki suojaa magneettia ja sen pinnoitusta mekaaniselta rasitukselta
- 15 2. Putki vahvistaa magneettitangon rakennetta ja erityisesti putken ja liikkuvan tapin liittymiskohtaa
3. Putki mahdollistaa magneetin keräyspinnan ja keräysvoiman säätämisen
4. Putki suojaa ulkopuolisia magneettikentille herkkiä laitteita erityisesti silloin kun magneetti on putken sisällä
- 20 5. Putkella voidaan venyttää ja/tai muotoilla venyvää suojakalvoa

- Magneetti voi olla muodoltaan esimerkiksi pyöreä tanko tai lappi, mutta se voi olla myös muun muotoinen. Magneetin magnetointiakseli voi myös vaihdella. Magnetointiakseli voi olla joko pituussuuntainen, jolloin se on yhdensuuntainen tangon pituusakselin kanssa ja magneetin navat ovat tangon päissä. Tällöin magnetointi on saman suuntainen kuin ferromagneettinen putki eli magneetin tai putken liikesuunnan suuntainen.

- Magneetin magnetointiakseli voi kuitenkin olla myös poikittaissuuntainen, jolloin se on kohtisuorassa sekä ferromagneettisen putken että tankomaisen magneetin pituusakselin suhteen. Tällöin magnetoinnin suunta on kohtisuorassa magneetin tai putken liikesuunnan suhteen.

- Toisaalta magneetti voi koostua myös useasta eri magneetista, jotka voivat olla samanlaisia tai erilaisia, ja jotka voivat olla kiinnitettynä toisiinsa magneettivoiman avulla tai jonkin materiaalin välityksellä, joka on ferromagneettista tai ei ole ferromagneettista. Magneetti voi olla myös yhdistelmä magneettista ja ferromagneettista materiaalia. Magneetti voi myös olla joko kestopagneetti tai sähkömagneetti.



- Keksinnön mukaisella magneettijärjestelyllä, suojakalvolla ja käytettävillä astioilla voidaan käsitellä erittäin leuhokkaasti mikropartikkeleita sekä suurissa että pienissä nestetilavuuksissa. Mikropartikkelien keskittäminen aivan magneettiyksikön kärkiosan tuntumaan mahdollistaa sekä konsentroinnin suurista tilavuuksista että mikropartikkelien käsittelyn pienissä tilavuuksissa. Keksinnössä kuvataan universaalia ratkaisua mikropartikkelien kanssa tehtäviin sovelluksiin sekä suuressa että pienessä mittakaavassa.
- 5
- 10 Keksinnön avulla saavutetaan ratkaisu, joka on optimaalinen käytettäväksi laajasti mikropartikkelien keräämiseksi ja siirtämiseksi sekä suurista että pienistä nestetilavuuksista. Erityisesti keksintö auttaa partikkelien keräämistä suurista nestetilavuuksista ja niiden vapauttamista pienin nestetilavuuksiin.
- 15 Keksinnössä esitetään erityisellä muovisuojan tai elastomeerin ulkopuolen muotoilulla saavutettavan riittävää tukea kerättävän mikropartikkelimassan edulliseksi ja luotettavaksi keräämiseksi suojan ympärille. Erityisellä muotoilulla tarkoitetaan esimerkiksi erikokoisia ja syvyisiä uria, kumppia ja/tai kohoimia. Näiden muotoilujen lomiin keräytyessään mikropartikkelipelletti saa erityistä tukea suojasta kun magneettiyksikköä siirrellään ja
- 20 nestevirtauksia vastaan. Erittäin merkittävä on viskoosien näytteiden aiheuttama vaikutus, joka merkitsee pahimmillaan sitä, että mikropartikkelit eivät pysy suojan kyljessä kiinni vaan jäävät liukseen. Suurten tilavuuksien käsittelyssä edellä mainitulla muotoilulla on luonnollisesti suuri etu keräysvarmuutteen.
- 25 Keksinnössä kuvattu laite ja menetelmä on mahdollista ottaa käyttöön erittäin suurten tilavuuksien käsittelyssä ja toisaalta sitä voidaan soveltaa myös pienissä tilavuuksissa. Erityisen tehokas menetelmä on silloin kun optimoidaan magneettiyksikkö, sen kanssa käytettävät astiat ja nestetilavuudet keskenään. Erityisesti magneettiyksikön syrjäyttämän nestetilavuuden käyttäminen nestepinnan korkeuden säätämiseksi on menetelmässä
- 30 erittäin leuhakas tapa konsentrointivaiheessa. Ensimmäistä kertaa kuvataan laite ja menetelmä, jonka mikropartikkelien keräämisalaa, voimakkuutta ja mikropartikkelien fyysistä sijaintipaikkaa voidaan säätää kulloistenkin tarpeiden mukaan.
- Keksinnössä kuvataan laite ja menetelmä, jolla voidaan kerätä mikropartikkeleita monessa eri sovelluksessa. Keskeinen tekninen ratkaisu keksinnössä on magneettikentän voiman ja kohdistuksen säätelymahdollisuus ferromagneettisen putken avulla ympäröivään suojakalvoon, jonka ympärille mikropartikkelit kerätään. Magneettia voidaan liikuttaa
- 35

ferromagneettisen putken suhteen ulos ja sisään, jolloin magneetin magneettikenttää muutetaan. Magneetin ollessa ulkona kohdistuu suojakalvoon sen suurin magneettikenttä kuin ferromagneettisen putken ulkopuolella on magneettia. Tällöin mikropartikkeleita voidaan kerätä suojakalvon ulkopuolelle. Kun magneetti on liikutettu kokonaan ferromagneettisen putken sisään ei ulospäin vaikuta merkittävää magneettikenttää. Tässä tapauksessa mikropartikkelit eivät keräänny suojakalvon ympärille vaan pysyvät liuoksessa. Putki voi olla kiinteä tai säädettävä jotta saadaan aikaan paras mahdollinen keräystehokkuus.

- 10 Keksinnön mukainen menetelmä ja laitemahdollistavat seuraavat ratkaisut ja ominaisuudet:
  1. Mikropartikkelien kerääminen suuresta nestemäärästä.
  2. Suuren mikropartikkelimäärän kerääminen.
  3. Saman laitteen käyttäminen pienten nestemäärien ja pienien mikropartikkelimäärien keräämisessä.
  - 15 4. Mikropartikkelien kerääminen ainoastaan magneetin yhteen päähän tai yli koko magneetin pinnan.
  5. Mikropartikkelien kerääminen jäykkää muovisuojaa käytettäessä.
  6. Mikropartikkelien kerääminen venyvää, elastomeerista muovisuojaa käytettäessä.
  - 20 7. Erilaisten liikkeiden, kuten magneetin tai sen ympärillä olevan holkin liikkeiden hyödyntäminen.
  8. Erilaisten astioiden käyttäminen konsentroinnissa.
  9. Mikropartikkelien vapauttaminen pleneen nestemäärään.
  10. Erilaisten magneettien käyttäminen optimaalisen mikropartikkelien keräysgeometrian aikaansaamiseksi.
  - 25 11. Tehokas sekoittaminen.
  12. Kocputken tai mikrolevyn kaivon tai kuopan sulkeminen suojakalvon avulla.

Mikropartikkeleissa voi olla affiniteettiligandeja, entsyymejä, vasta aineita, bakteereja, soluja tai soluorganelleja. Haluttujen komponenttien sitoutuminen voidaan myös saada aikaan valitsemalla käytettävien mikropartikkelien pinta-ominaisuudet ja puskurien kompositio sopivasti edulliseksi sitomaan haluttuja komponentteja näytteistä. Esimerkkeinä ovat ioninvaihto-, hydrofobinen- ja käänteisfaasikromatografia. Näissä esimerkiksi proteiinin sitoutuminen ja vapauttaminen mikropartikkelien pinnalta suoritetaan sopivasti valittujen puskurien ja liuosten avulla. Erittäin tärkeitä tekijöitä ovat tällöin esimerkiksi suolapitoisuus ja pH.

- Affiniteettiligandi voi olla esimerkiksi yksi- tai kaksisäikeinen nukleotidisekvenssi, kuten esimerkiksi DNA (Deoxyribonucleic Acid), RNA, mRNA tai cDNA (Complementary DNA), tai PNA (Peptide Nucleic Acid), proteiini, peptidi, polysakkaridi, oligosakkaridi, pienimolekyylinen yhdiste tai lektiini. Affiniteettiligandi voi olla myös jokin seuraavista:
- 5 Ovomucoid, Protein A, Aminophenyl boronic acid, Procion red, Phosphoryl ethanolamine, Protein G, Phenyl alanine, Proteamine, Pepstatin, Dextran sulfate, EDTA (Ethylenediaminetetraacetic Acid), PEG (Polyethylene Glycol), N-acetyl-glucosamine, Gelatin, Glutathione, Heparin, Iminodiacetic acid, NTA (Nitrilotriacetic Acid), Lentil lectin, Lysine, NAD (Nicotinamide Adenine Dinucleotide), Aminobenzamide, Acriflavine, AMP,
  - 10 Aprotinin, Avidin, Streptavidin, Bovine serum albumin (BSA), Biotin, Concanavalin A (ConA) ja Cibacron Blue.

- Entsyymien tai affiniteettiligandin immobilisointi mikropartikkeleihin tarkoittaa sitä, että entsyymi tai ligandi on kiinnitetty partikkeleiden pintaan tai että se on vangittu
- 15 "häkklämsen" partikkelin sisään, kuitenkin niin, että ympäröivä liuos pääsee kosketukseen sen kanssa.

- Entsyymien tai affiniteettiligandin kiinnittäminen mikropartikkeleihin voidaan tehdä kovalenttisen sidoksen avulla, esimerkiksi kantajassa olevien amino- tai hydroksiryhmien avulla. Vaihtoehtoisesti sitominen voidaan aikaansaada bioaffiniteettiparin, esimerkiksi biotiini/streptavidini -parin avulla. Erään tavan mukaan immobilisoitava entsyymi tuotetaan rekombinantti-DNA-tekniikalla esimerkiksi *Escherichia coli* bakteerissa ja entsyymien on tehty erityinen affiniteettihäntä. Tämä affiniteettihäntä sitoutuu mikropartikkeleihin, joihin on sopivasti kiinnitetty kyseiseen affiniteettihäntään voimakkaasti sitoutuva komponentti.
- 20 Affiniteettihäntä voi olla pienimolekyylinen yhdiste tai proteiini. Tällaisella järjestelyllä halutun entsyymien puhdistamisessa voitaisiin tehokkaasti käyttää hyväksi mikropartikkeleita ja samalla mikropartikkelin sitoutunut entsyymi olisi valmiiksi immobilisoitu mikropartikkelin pinnalle käytettäväksi keksinnössä kuvatussa menetelmässä.

- 30 Entsyymien tai affiniteettiligandin kiinnittäminen mikropartikkeleihin voi myös olla epäspesifinen, ei-kovalenttinen, kuten adsorptio.

- Keksinnön kohteena on laite ja menetelmä mikropartikkeleiden kerääminen hyvinkin erikokoisista astioista ja mikropartikkelien siirtäminen astiasta toiseen. Erityisesti keksinnössä kuvataan laitetta, jolla voidaan suuresta tilavuudesta kerätä mikropartikkelit ja konsentroida ne pienempään tilavuuteen. Käsite "mikropartikkeli" tarkoittaa tässä
- 35

- yhteydessä partikkeleita, joiden koko suositeltavasti on 0,10-100 µm. Mikropartikkeli voi olla myös huomattavasti suurempikin partikkeli esimerkiksi useita millimetriä halkaisijaltaan oleva partikkeli. Keksinnössä mikropartikkelit ovat magneettisia, kuten esimerkiksi para-, superpara- tai ferromagneettisia, tai magnetoitavissa olevaa materiaalia, tai
- 6 mikropartikkelit on liitetty magneettiseen tai magnetoitavissa olevaan kappaleeseen ja että mikropartikkelit, joihin voi olla liitettynä esimerkiksi affiniteettiryhmiä tai entsyymeitä, vangitaan ensimmäiseen astiaan upotetun magneettiyksikön avulla, siirretään magneettiyksikkö toiseen astiaan, ja vapautetaan mikropartikkelit magneetin vaikutuksesta sopivin eri tavoin kuten keksinnössä kuvataan. Vaihtoehtoisesti mikropartikkeleja ei
- 10 tarvitse erityisesti irrottaa magneettiyksiköstä.

- Magneetti, jonka avulla partikkelit vangitaan, voi olla joko kestopagneetti tai säiliömagneetti. Magneettien muoto voi sovelluksesta riippuen vaihdella. Magneettikenttä voi olla magneeteissa erilainen: pituussuunnassa magnetoitu magneetti,
- 15 samansuuntaisesti kuin magneetin halkaisija magnetoitu tai useita magneettinapoja samassa magneettikappaleessa. Yksittäisiä magneetteja voi olla myös liitettynä toisiinsa tai sopivien ferromagneettisten tai ei-ferromagneettisten välikappaleiden avulla.

- Suojakalvo voi olla venymätöntä materiaalia kuten esimerkiksi polypropyleeniä,
- 20 polystyreeniä, polykarbonaattia, polysulfonia ja polyetyleniä. Suojakalvo voi olla myös ei-ferromagneettista metallia tai ferromagneettista metallia. Suojakalvo voi olla myös venyvää elastomerista materiaalia kuten esimerkiksi silikonikumia, fluoroelastomeeriä, polykloropreeniä, polyuretaania tai klorosulfonoitua polyetyleniä. Suojakalvo voi myös olla käsitelty erityisillä aineilla ja näin saada suojakalvon ominaisuuksia muutettua. Suojakalvo
- 25 voi näin olla pinnoitettu esimerkiksi teflonilla (PTFE, Polytetrafluoroethylene). Erityisen tärkeää on voida valita suojamateriaali ja mahdollinen lisäkäsittely siten, että lopputulos mahdollistaa keksinnön mukaisen toiminnan jopa erittäin voimakkaiden tai syövyttävien kemikaalien kanssa. Suojakalvo voi myös olla muotoiltu siten, että se mahdollistaa useiden erillisten magneettiyksiköiden suojauksen, esimerkiksi 8, 12 tai 96 kanavaisissa laitteissa.
- 30 Suojakalvon muoto voi olla joko putkimainen, levymainen tai epäsäännöllisesti muotoiltu. Erityisen monia mahdollisuuksia on elastomeeristä suojakalvoa käytettäessä, koska tällöin sisällä oleva magneetti ja ferromagneettinen putki voivat myös muotoilla suojakalvoa.

- Eräs edullinen vaihtoehto suojakalvolle on tasainen tai levymainen, venyvää materiaalia
- 35 oleva suojakalvo. Tällainen suojakalvo voi olla yksittäinen ja erityisessä kehyksessä oleva, venyvä kalvo. Kehyksen tarkoituksena on helpottaa suojakalvon käyttöä sekä alkaansaada kalvolle venytykseen sopivia ominaisuuksia. Toinen vaihtoehto on rullamainen

- sovellusmuoto, jolloin suojakalvon vaihto voidaan tehdä yksinkertaisesti rullaamalla uutta suojakalvoa rullalta. Tähänkin vaihtoehtoon voi sisältyä kehyksen, erityisen tuen tai kannallinen käyttäminen silloin, kun suojakalvoa venytetään varsinaisen käytön aikana. Tällaisen, yhdestä levystä muodostuvan suojakalvon käyttäminen on erittäin suositeltava
- 5 vaihtoehto silloin, kun halutaan vähentää materiaalin kulutusta eristys- ja puhdistustapahtumissa. Levymäisen suojakalvon käyttäminen on myös taloudellisesti halvempaa kuin muottityökaluilla valmistettujen muotolltujen ja isokokoisten suojakalvojen käyttäminen.
- 10 Levymäisen suojakalvon käyttäminen automaattisessa laitteessa on erittäin yksinkertainen ja tehokas vaihtoehto. Levymäistä suojakalvoa käytettäessä voidaan ferromagneettisella holkillä suorittaa ensimmäisessä vaiheessa alkuvenytys. Tässä vaiheessa magneetti on vielä ferromagneettisen holkin sisällä eikä suojakalvon ulkopuolella oleviin mikropartikkeleihin kohdistu magneettikenttää. Samalla kun suojakalvoa pidetään edelleen
- 15 venytettynä, voidaan magneettia tuoda sopivasti ulos ferromagneettisen holkin sisällä. Tällöin magneetti venyttää suojakalvoa vielä lisää ja saa aikaan mikropartikkelien kerääntymisen suojakalvon ympärille kohtaan, jossa magneetin napa tai navat ovat. Liikuttamalla magneettia holkin sisälle tai ulos saadaan liuosta koeputkessa sekoitettua magneetin avulla. Sekoitus voidaan suorittaa myös ferromagneettista holkkia liikuttamalla
- 20 ylös ja alas.
- Erityisen edullinen edellä esitetty sovellusmuoto on käsiteltäessä mikropartikkeleita pienissä astioissa, kuten esimerkiksi mikrolevyissä, joissa on 96 tai 384 kaivoa. Esitetty liuoksen ja mikropartikkellen sekoitustapa on edullinen siksi, että koko laitetta ei tarvitse
- 25 liikuttaa. Sekoitus tapahtuu pelkästään liikuttamalla magneettia ja/tai ferromagneettista holkkia. Erityisen optimaalinen esitetty ratkaisu on siltä syystä, että prosessissa ei tarvita perinteisiä ravistelijoita lainkaan. Onhan tunnettu tosiasia se, että perinteiset ravistelijat eivät pysty sekoittamaan tehokkaasti pieniä liuosmääriä eikä varsinkaan pitämään mikropartikkeleita liuoksessa. Tunnettujen laitteiden suuri ongelma onkin mikropartikkelien
- 30 nopea sedimentoituminen kuopan pohjalle.
- Edellä mainituissa tunneleissa mikrolevyissä, joissa käytetään pieniä nesteliavuuksia, on nesteen haihtuminen inkubaatioiden ja sekoitusten aikana myös erityisen kriittinen asia. Käyttämällä suojakalvoa esilelyllä lavalla keksinnön mukaisesti mikropartikkeleita voidaan
- 35 käsitellä myös pienissä tilaavuuksissa, koska suojakalvo sulkee samalla kuopan suun, jolloin nesteen haihtuminen vähenee. Siksi mikrolevyissä ei keksinnön mukaan enää

tarvita erillistä alumiinista, kumista tai liimateipin muodostamaa sulkejakantta sekoitusten ja inkubaatioiden ajaksi.

- 5 Etenkin silloin kun siirtolaitteissa käytetään erillisiä suojakalvoja, niin suojakalvo voi olla muotoiltu kärkeosastaan erityisellä tavalla. Kärkeosan muotoilu voi olla tarkoitettu aikaansaamaan mahdollisimman suuren mikropartikkelimäärän siirtämisen luotettavasti esimerkiksi viskoosisista biologisesta näylleestä toiseen astiaan. Kerättäessä suuria määriä mikropartikkeleita pitkänomaisen suojakalvon kärkeosaan, kuten pituussuunnassa magnetoitua kestopagneettia käytettäessä tapahtuu, ovat uloimmat
- 10 mikropartikkelikerrokset koko ajan vaarassa irrota ja jäädä liukseen. Myös nestejännitys liuksen ja ilman rajapinnassa on erittäin voimakas ja saa aikaan samankaltaisen mikropartikkeleita irrottavan vaikutuksen.

- 15 Suojakalvoa voidaankin muotoilla niin, että mikropartikkelit pysyvät mahdollisimman hyvin kiinni suojakalvossa siirtolaitetta liikuttaessa syntyvistä virtauksista huolimatta sekä nestepinnan läpäisystä ja nestepinnan pintajännityksen vaikutuksesta huolimatta. Sitä varten suojakalvon kärkeen voidaan tehdä erilaisia syvennyksiä ja ulkonemia, joilla aikaansaadaan kerättyjen mikropartikkelien luotettava siirto toiseen liukseen. Tällöin suojakalvo voi olla joko venyvää tai venymätöntä materiaalia.

- 20 Venyvästä materiaalista tehdyssä suojakalvossa voi olla erityinen muotoilu, jolla saadaan varmistettua sekä suuren mikropartikkelimäärän luotettava kerääminen että siirtäminen astiasta toiseen. Sitä varten suojakalvon reunoilla voi olla erityisiä kohoumia ja syvennyksiä, joihin mikropartikkelit kerääntyvät. Tällöin on edullista käyttää
- 25 poikkisuuntaisesti magnetoitua magneettia, jolla mikropartikkeleita saadaan kerättyä isolle pinnalle. Suojakalvon muotoilulla aikaansaadaan erityisiä mikropartikkelimassoja kannattelevia rakenteita. Muotoilulla vaikutetaan myös nestevirtausten ja nestejännityksen häiritseviin vaikutuksiin. Venyvää materiaalia ja eri paksuisia kohtia käytettäessä suojakalvon kohoumat ja syvennykset venyvät eri tavoin. Tätä ilmiötä voidaan tehokkaasti
- 30 käyttää hyväksi sekä mikropartikkelien liotuksessa että varsinkin tehokkaan sekoituksen aikaansaamiseksi liukseen.

- 35 Suurten mikropartikkelimassojen konsentroinnissa pienempiin tilavuuksiin edellytetään tehokasta sekoitusta, jonka avulla mikropartikkelit saadaan tehokkaasti irtaamaan suojakalvon seinämältä. Esitetyllä tavalla suojakalvo itsessään toimii sekoituksen aikaansaavana elementtinä ja on näin ollen erittäin tehokas laite sekoituksen suorittamiseksi. Edullisimmin suojakalvon muotoilu on erilainen eri kohdissa suojakalvoa.

- Haluttaessa kerätä mikropartikkelit liuoksesta liikutetaan magneettia alas ja samalla venytetään kalvoa. Suojakalvoa venytettäessä sen pinnan erityinen muotoilu aikaansaa mikropartikkelien kerääntymisen suojaisiin tai kannatteleviin alueisiin suojakalvon pinnalla. Kun mikropartikkelit halutaan irrottaa suojakalvolta, niin magneettia liikutetaan ylös päin
- 5 ferromagneettisen holkin sisälle. Mikropartikkelien irrotuksen varmistamiseksi voidaan ferromagneettista holkkia liikuttaa samalla alaspäin, mikä venyttää suojakalvoa, ja sen jälkeen taas ylöspäin sekä toistaen näitä liikkeitä sopivasti.

- Samalla neste astiassa on saatu sekoittumaan erittäin tehokkaasti, koska suojakalvon
- 10 pinnan sopiva muotoilu toimii kuin vedonalainen paljopumppu. Vaihtoehtoisesti on myös mahdollista liikuttaa magneettia alaspäin ja siten venyttää suojakalvoa, kun halutaan aikaansaada tehokas sekoitus edellä kuvattuun ilmiöön perustuen. Magneetin liikuttaminen ferromagneettisen putken sijasta saa samalla aikaan myös mikropartikkelien liikkeen kohti magneettia ja suojakalvon pintaa, mikä edelleen tehostaa sekoitusta. Näitä edellä
- 15 mainittuja tapoja sekoittaa nestettä voidaan myös sopivasti yhdistellä. Tällainen sekoitusmenetelmä toimii myös käytettäessä pituussuunnassa magnetoitua magneettia.

#### KEKSINNÖN MUKAINEN REAKTIOYKSIKKÖ

- Keksinnön kohteena on myös mikropartikkelien reaktioyksikkö. Keksinnön erään edullisen
- 20 sovellutusmuodon mukaan keksinnön mukainen siirtolaite voi muodostaa myös reaktioyksikön (engl. reactor unit), jossa astia tai reaktori voi olla eri materiaaleista valmistettu ja vaihtelevan muotoinen. Astiassa, joka muodostaa reaktorikammion (engl. reactor chamber) voi olla yksi tai useampi aukko nesteiden sisään- ja ulosvientiä varten. Astiassa voi olla järjestely, jolla käsiteltävää nestettä kierrätetään uudestaan käsiteltäväksi
- 25 astian sisään. Astia voi olla osa suurempaa kokonaisuutta, jossa on useita erilaisia ja erikokoisia astioita liitettyinä sopivasti toisiinsa.

- Keksinnössä kuvattu ferromagneettinen putki voi olla yksittäinen putki, joukko useampia putkia yhdessä tai järjestely, jossa yksittäiset putket muodostavat erityisen muodostelman
- 30 putkia. Eräässä keksinnön suoritusmuodossa ferromagneettinen putki voi olla erityinen ferromagneettinen levy, jossa on yksi tai useampi reikä, joissa yksi tai useampi magneetti voi liikkua. Tällainen järjestely on erityisen edullinen käsiteltäessä pieniä tilavuuksia esimerkiksi 8, 24, 48, 96 ja 384 kuoppalevy-formaateissa, kuten mikrolevyissä tai vastaavissa.

- 35 Varsinkin erittäin suuria tilavuuksia käsiteltäessä voi olla edullista sisällyttää useita magneettiyksiköitä magneettiyksikköryhmäksi, jolloin keräyspintaa suurillo

mikropartikkelimassoille voidaan entisestään kasvattaa. Lisäksi suojakalvon muotoilulla voidaan saavuttaa edullisia vaihtoehtoja suurten partikkelimassojen käsittelyyn.

- 5 Esitetyllä laitteella voidaan kerätä mikropartikkeleita useista eri astioista tai voidaan tehdä järjestely, jossa neste kulkee tasaisena virtana sauvojen ohi. Jälkimmäisessä tapauksessa on se etu, että siinä suurtenkin tilavuuksien operoiminen on suhteellisen vaivatonta. Näissä kummassakin tapauksessa on lähtöoletuksena ollut se, että partikkelit ovat ensin vapaasti liuksessa, josta ne sitten kerätään keksinnössä kuvatulla menetelmällä.
- 10 Keksinnön mukaisesti yhden suojakalvon sisällä voi myös olla useita magneettisauvoja suojakalvon sisäkehällä sopivasti järjestettynä. Erityisesti tämä koskee erittäin suurikokoisen suojakalvon tapausta, jolloin käsitellään erittäin suuria nestetilavuuksia. Toinen vaihtoehto on käyttää yhtä erittäin isoa magneettisauvaa suurikokoisen suojakalvon sisällä.
- 15 Keksinnön mukaisesti voi olla myös ratkaisu, jossa erikseen on magneettisauvat keräämään mikropartikkeleita ja erityinen laite tai sauva liikuttelemaan nestelinjaa sopivasti keksinnössä kuvatulla tavalla. Tämä ratkaisu mahdollistaa ratkaisuja, joissa magneettisauvat eivät liiku lainkaan vaan nesteen ja mikropartikkelien liikutus hoidetaan
- 20 sille erityisesti suunnitellun elimen avulla. Tällaisessa ratkaisussa käytettävä astia tai reaktori on sopivasti suunniteltu vastaamaan kuvattuja tarpeita.
- 25 Eräessä keksinnön mukaisessa sovellutusmuodossa on monta erillistä magneettisauvaa, joihin jokaiseen kuuluu oma suojakalvonsa. Nämä magneettisauvat voivat olla ryhmitelty sopivaan muodostelmaan, kuten osimerkiksi viuhkaksi riviin, ympyrän kaarelle tai usealle sisäkkäiselle ympyrän kaarelle, jossa jokainen sauva kerää ympärilleen sopivan määrän mikropartikkeleita.
- 30 Jos tällainen ratkaisu on vielä sijoitettuna suljettuun astiaan tai reaktoriin, jonne voidaan lisäksi tarpeen mukaan nestettä, ja jossa voi olla erillinen venttiili, josta käsitelty neste voidaan päästä pois, niin näin aikaan saadulla ratkaisulla voidaan käsitellä erittäin suuria nestetilavuuksia. Jos näin kuvattua reaktorityyppiä pidetään kyljellään ja magneettisauvasysteemiä voidaan pyörittää suhteessa reaktorin suojakuoriin, niin
- 35 tällaisella ratkaisulla voidaan saada myös sekoitus käsiteltäessä nestemäisiä näytteitä ja mikropartikkeleita. Mikropartikkelit voivat olla myös valmiiksi magneettisauvoissa kiinni tai ne voidaan sopivasti prosessin aikana kiinnittää magneettisauvojen suojan päälle ja näin aktiivista pintaa on reaktorissa erittäin paljon. Sekoittamalla saadaan käsiteltävä neste



kulkemaan mikropartikkellen lomitse siten, että halutut komponentit kuten esimerkiksi proteiinit tarttuvat sauvojen päällä oleviin mikropartikkeleihin. Toisaalta neste voidaan saattaa mikropartikkellen lomitse järjestämällä nestevirtaukset sopivasti astiaan tai reaktorin sisällä.

5

- Keksinnön mukainen laite ja menetelmä eivät rajoitu vain esimerkiksi molekyylibiologiaan tai proteiinien puhdistukseen, vaan ne on yleisesti sovellettavissa aloilla, joilla voidaan käyttää mikropartikkeleihin sidottuja ligandeja syntetisoimaan, sitomaan, eristämään, puhdistamaan tai rikastamaan haluttuja tekijöitä erilaisista näytteistä: diagnostiset sovellukset, biolääketiede, patogeenien rikastaminen, kemikaalien syntetisoiminen, bakteerien ja solujen eristäminen.

10

### KEKSINNÖN KÄYTTÖSOVELLUKSET

- Keksinnön mukainen laite ja menetelmä soveltuu käytettäväksi erittäin monilla sovellusalueilla esimerkiksi proteiinkemian, molekyylibiologian, solubiologian ja proteomiikan alueilla. Keksinnöllä on sovelluksia teollisuudessa, diagnostikassa, analytiikassa ja tutkimuksessa.

15

- Proteiinien puhdistuksessa on tarvetta tehdä puhdistuskokeita pienissä tilavuuksissa ja toisaalta kasvattaa kapasiteettia hyvinkin suuriin tilavuuksiin. Kuvatussa keksinnöllä voidaan suorittaa proteiinipuhdistuksia tarpeen mukaan erilaisista näytetilavuuksista. Proteiinikemisteillä on tarve pystyä puhdistamaan proteiinia mahdollisimman vähän esikäsitellyistä näytteistä, kuten esimerkiksi solulyysaateista (engl. Cell Lysate). Tärkeää on myös voida vaihdella puhdistuskapasiteettia muuttuvien tarpeiden mukaan. Nykyään se on mahdollista vaihtamalla käytettäviä pylväskokoja. Puhdistuksen edetessä proteiinin konsentroiminen on yksi keskeisistä toimenpiteistä. Käytännössä tämä tarkoittaa nestetilavuuden pienentämistä ilman proteiinien merkittävää häviämistä tai denaturoitumista. Nykyisin yleisimmin käytetyt menetelmät ovat dialyysi tai suodatus. Molemmat ovat erittäin paljon aikaa vieviä menetelmiä. Tässä keksinnössä kuvatussa laitteella ja menetelmällä voidaan tarjota proteiinialueelle monipuolinen ja vaihteleviin näytetilavuuksiin soveltuva menetelmä. Kapasiteetin muuttaminen on helppoa ilman uusien kolonnien ostamista tai valmistamista. Yksinkertaisesti valitaan suurempaan näytetilavuuteen suurempi määrä mikropartikkeleita ja proteiinien sitomisen jälkeen kerataan keksinnossa kuvatussa laitteella ja menetelmällä mikropartikkelit ja proteiini pois liuoksesta. Pesuvaiheet voidaan suorittaa joko samassa astiassa tai vaihtamalla astiaa. Edellisessä tapauksessa käytetyt pesupuskurit pitää johtaa pois astiasta ja saada uusi pesupuskuri tilalle. Puskurin vaihto voidaan suorittaa myös erilaisilla venttiilijärjestelyillä tai

20

25

30

35

imujärjestelyillä. Pesujen jälkeen voidaan haluttaessa vapauttaa mikropartikkeleihin sitoutuneet proteiinit pienen tilavuuteen ja konsentroida proteiiniolosuhteeksi. Tarpeen mukaan voidaan tilavuuden pienentäminen tehdä vaihteellain pienempää tilavuutta kohti.

5

Keksinnössä kuvatulla laitteella ja menetelmällä voidaan tehdä esimerkiksi ioninvaihto kromatografiaa, käänteisfaasi kromatografiaa, hydrofobista kromatografiaa ja affiniteettikromatografisia puhdistuksia. Geelisuodatuksenkin kuvatulla laitteella

10

pysytään, mutta se edellyttää varsinaisen geelisuodatuksen suorittamista esimerkiksi kolonnissa ja tämän jälkeen mikropartikkelien keräämisen keksinnön mukaisella laitteella ja proteiinien ulosajamisen pienen tilavuuteen. Menetelmä mahdollistaa esimerkiksi suolanpoistamisen näytteistä ilman suurta näytteen laimenemistä verrattuna perinteiseen geelisuodatuskolonneihin.

15

Immobilisoitujen entsyymien käyttäminen erilaisten proteiinien, sokerien, rasvojen ja erilaisten nk biopolymeerien prosessoimisessa on erittäin tärkeä sovellusalue kuvatulle keksinnölle. Tärkeä ominaisuus verrattuna liukoisten entsyymien käyttämiselle on immobilisoitujen entsyymien helppo uudelleenkäyttämömahdollisuus. Kuvatulla keksinnöllä immobilisoidun entsyymin pesominen jatkokäyttöä varten on erittäin helppoa ja tehokasta.

20

Esimerkkojä keskeisistä, muun muassa teollisuudessa käytetyistä entsyymiryhmistä ja yksittäisistä entsyymeistä ovat:

- KARBOHYDRAASIT: Alpha-Amylases, Beta-Amylase, Cellulase, Dextranase, Alpha-Glucosidase, Alpha-Galactosidase, Glucoamylase, Hemicellulase, Pectinase, Pullulanase
- PROTEAASIT: Acid Protease, Alkaline Protease, Bromelain, Ficin, Neutral Proteases, Papain, Pepsin, Peptidases, Rennin, Chymosin, Subtilisin, Thermolysin, Trypsin
- LIPAASIT AND ESTERAASIT: Triglyceridases, Phospholipases, Esterases, Acetylcholinesterase, Phosphatases, Phylase, Amidases, Aminoacylase, Glutaminase, Lysozyme, Penicillin Acylase
- ISOMERAASIT: Glucose Isomerase, epimerases, racemases
- OKSIDOREDUKTAASIT: Amino Acid Oxidase, Catalase, Chloroperoxidase, Glucose Oxidase, Hydroxysteroid Dehydrogenase, Alcohol dehydrogenase, Aldehyde dehydrogenase, Peroxidases
- LYAASIT: Acetylaldehyde Decarboxylase, Aspartic Beta-Decarboxylase, Fumarase, Histidase, DOPA decarboxylase

- TRANSFERAASIT: Cyclodextrin Glycosyltransferase, Methyltransferase, Transaminase, Kinases
- LIGAASIT
- FOSFATAASIT: Alkaline Phosphatase

5

Entsyymien käyttäminen on erittäin yleistä monilla eri teollisuuden haaroilla, joista seuraavassa muutamia esimerkkejä: lipidien, proteiinien, peptidien, steroidien, sokerien, aminohappojen, lääkeaineiden, muovien, hajusteiden, kemikaalien ja nk. chiral kemikaalien synteesit ja modifiointi.

10

Myös erilaiset glykobiologiaan liittyvät syntetisoivat ja pilkkoavat entsyymit kuten esimerkiksi endo- ja exoglykosidaasit kuuluvat keksinnön piiriin. Samaten molekyylibiologian sovelluksista tutut entsyymit kuten restriktioentsyymit, nukleasit, ribozymet, polymeraasit, liigaasit, käänteistranskriptaasit, kinaasit ja fosfataasit kuuluvat keksinnössä kuvatus menetelmän piiriin. Esimerkkeinä DNA/RNA modifioivista entsyymeistä voidaan mainita: CIAP (Calf Intestinal Alkaline Phosphatase), E. Coli alkaline phosphatase, eksonukleasit (esimerkiksi P1 nukleasi, S1 nukleasi), ribonukleasit, RNAasit (esim. Pancreatic RNAasi, RNAasi H, RNAasi T1, RNAasi M, RNAasi T2), DNA liigaasit, RNA liigaasit, DNA polymeraasit, Klenow entsyymi, RNA polymeraasit, DNA kinaasit, RNA kinaasit, terminal transferaasit, AMV reverse transcriptase ja fosfodiesterasaasit. Naiden ja muiden DNA/RNA modifioivien entsyymien käyttö on erittäin monimuotoista sekä molekyylibiologian tutkimuksessa että sovelluksissa. Proteomiikassa ja proteini-kemialla proteaasit ovat erittäin tärkeitä entsyymejä, joista eräitä esimerkkejä ovat trypsiini, kymotrypsiini, papaaliini, pepsini, kollageenaasi, dipeptidyl-peptidaasi IV ja erilaiset endoproteinaasit. Synteettiset entsyymit, katalyyttiset vasta-aineet ja multientsyymikompleksit ovat mahdollisia käytettäväksi keksinnössä kuvatuilla tavoilla. Keksinnön käyttöä ei myöskään rajoita entsyymien ja muiden katalyyttisten komponenttien käyttö vedettömissä olosuhteissa esimerkiksi orgaanisissa liuottimissa.

30 Konkreettisia esimerkkeinä keksinnön sovelluksista molekyylibiologian alalla voidaan mainita:

#### DNA INSERTTIEN KLOONAUS:

DNA inserttien kloonauksessa tarvitaan restriktioentsyymejä, (Esim. EcoR I, Hind III, Bam HI, Pst I, Sal I, Bgl II, Kpn I, Xba I, Sac I, Xho I, Hae III, Pvu II, Not I, Sst I, Bgl I), creating blunt ends (esim. lämpöstabiliili polymeraasi, Klenow Fragment DNA Polymerase I, Mung Bean nukleasi), liigaatit (esim. T4 DNA Ligase, E. coli DNA Ligase, T4 RNA Ligase),

fosforylointi (esim. T4 Polynucleotide Kinase), defosforylaatio (esim. CIAP, E. coli Alkaline Phosphatase, T4 Polynucleotide Kinase) ja deletiot (esim. T4 DNA Polymerase, lämpöstabiilit polymeraasit, Exo III Nuclease, Mung Bean Nuclease)

5 cDNA:n SYNTETISOINTI JA KLOONAUUS:

Reverse Transcriptase, RNase H, DNA polymerase I, T4 DNA polymerase I, E. coli DNA Ligase.

NUKLEIINIHAAPPOJEN LEIMAUUS:

- 10 5' leimaus (esim. T4 Polynucleotide Kinase), 3' addition (esim. T4 RNA Ligase), 3' fill-in (esim. Klenow Fragment DNA Polymerase I, T4 DNA Polymerase), 3' exchange (esim. T4 DNA Polymerase, lämpöstabiilit polymeraasit), nick-translation (esim. E. coli DNA Polymerase I, lämpöstabiilit polymeraasit), replacement synteesi (esim. T4 DNA Polymerase, lämpöstabiilit polymeraasit, Exo III Nuclease), random priming (esim. Klenow
- 15 Fragment DNA Polymerase I, lämpöstabiilit polymeraasit) ja RNA koellimet (esim. T7 RNA Polymerase, SP6 RNA Polymerase).

NUKLEIINIHAAPPOJEN SEKVENTOINTI:

- 20 DNA:n sekventointi (esim. E. coli DNA Polymerase I, Klenow Fragment DNA Polymerase I, lämpöstabiilit polymeraasit) ja RNA:n sekventointi (esim. Reverse Transcriptase, lämpöstabiilit kääntöistanskriptaaetit).

NUKLEIINIHAAPPOJEN MUTAGENOINTI:

- 25 Oligonucleotide directed (esim. T4 DNA Polymerase, T7 DNA Polymerase, lämpöstabiilit polymeraasit) ja Misincorporation (esim. Exo III Nuclease, Klenow Fragment DNA Polymerase I, lämpöstabiilit polymeraasit).

MAPPING:

- 30 Restriction (esim. Exo III Nuclease), Footprinting (esim. Exo III Nuclease) ja Transcripl (esim. Reverse Transcriptase, Mung Bean Nuclease).

NUKLEIINIHAAPPOJEN PUHDISTAMINEN:

Genomisen DNA:n, PCR fragmenttien, DNA/RNA koettimien ja plasmidi DNA:n eristäminen ja puhdistaminen.

35

DNA DIAGNOSTIC TECHNIQUES:

DNA Mapping, DNA:n sekvenointi, SNP-analyysit (Single Nucleotide Polymorphism), kromosomiaalyysit, DNA kirjastot, PCR (Polymerase Chain Reaction), Inverse PCR, LCR (Ligase Chain Reaction), NASBA (Nucleic Acid Strand-Based Amplification), Q beta replicase, Ribonuclease Protection Assay.

5

#### DNA DIAGNOSTIIKKAA:

RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism), AFLP (Amplified Fragment Polymorphism), bakteeri-infektioiden diagnostiikka, bakteerien antibioottiresistenttiys DNA fingerprints, SAGE (Serial Analysis of Gene Expression) ja DNA:n sekvenointi.

10

Solujen eristämisessä kuvattua menetelmää voidaan käyttää myös laajasti hyväksi. Kiinnostavia soluja ovat muiden muassa kantasolut, B-lymfosyytit, T-lymfosyytit, endoteelliset solut, granylosyytit, Langerhansinsolut, leukosyytit, monosyytit, makrofagit, myeloid cells, NK solut (engl. Natural Killer Cells), retikuloosyytit, trophoblasts, syöpäsolut, transfektoidut solut ja hybridomasolut. Solujen eristämisessä voidaan käyttää yleisesti tunnettuja menetelmiä kuten esimerkiksi suoraa tai käänteistä solujen eristämistapaa. Ensinnäkin mainitussa, suorassa eristämislavassa, halutut solut kerätään erilleen näytteestä sitomalla ne mikropartikkelien pintaan esimerkiksi spesifisiä vasta-aineita hyväksikäyttämällä. Epäsuorassa menetelmässä haluttuja soluja ei sidota mikropartikkeleihin kiinni vaan kaikki muut näytteessä olevat solut. Halutut solut jäävät tässä tapauksessa liuokseen.

20

Bakteerien, virusten, hiivojen ja monien muiden yksi tai monisoluisien eliöiden eristämiseen, puhdistamiseen ja/tai rikastamiseen keksinnössä kuvattu menetelmä soveltuu hyvin. Erityisen tärkeä sovellusalue on patogeenisten bakteerien, kuten esim. salmonella, listeria, campylobacter, E. coli O157 ja clostridium, virusten, parasiittien, alkueläinten tai muiden pieneliöiden rikastaminen isosta neste-tilavuudesta. Keksinnössä kuvattua laitetta ja menetelmää voidaan hyödyntää myös näillä sovellusalueilla.

25

Blokatalyyysillä ymmärretään yleisesti bakteerien, entsyymien tai muiden entsyymeja sisältävien komponenttien käyttämistä prosessissa. Entsyymit tai bakteerit voivat olla immobilisoituja sopivaan kiintokantajaan ja käsiteltävä aine saatetaan immobilisoitujen komponenttien kanssa yhteyteen esimerkiksi perinteisiä kolonneja käyttämällä. Tämän keksinnön mukaisesti soluja tai entsyymeja voidaan kiinnittää sopivasti mikropartikkeleihin, joita sitten käytetään keksinnön mukaisesti suorittamaan erilaisia entsyymaattisia reaktioita.

35

Soluorganellien ja erilaisten solufraktioiden eristäminen kuuluu myös keksinnön sovellusalueiden piiriin. Soluorganellit voidaan eristää normaaliin tapaan käyttämällä hyväksi esimerkiksi spesifisiä vasta-aineita tai erilaisia affiniteetiligandeja.

- 5 Nukleinihappojen puhdistuksessa on hyvin erilaisia tarpeita lähtien aivan pienten DNA (Deoxyribonucleic Acid), RNA (Ribonucleic Acid) tai mRNA (Messenger RNA) määrien puhdistuksesta suuriin monien litrojen käsittelytarpeisiin. Tämän keksinnön mukaisella menetelmällä voidaan sekä suurista että pienistä näytemääristä eristää nukleinihappo tehokkaasti.
- 10 Menetelmän avulla voidaan ketjuttaa eristys- ja puhdistustapahtumia erilaisien tarpeiden mukaan. Voidaan esimerkiksi ensin eristää halutut solut näytteestä ja puhdistaa ne. Tämän jälkeen soluista voidaan eristää esimerkiksi soluorganellit erilleen. Soluorganellit puhdistetaan ja prosessi voi jatkua esimerkiksi DNA:n tai proteiinin puhdistamiseen.
- 15 Prosessin aikana voidaan vaihdella erilaisilla päällisyksillä ja ominaisuuksilla varustettuja mikropartikkeleita tarpeiden mukaan. Viimeinen vaihe on puhdistetun tuotteen konsentroiminen haluttuun tilavuuteen.

#### LYHYT SELOSTUS PIIRUSTUKSISTA

- 20 Kuviot 1A-1G esittävät kaaviollisesti keksinnön mukaisen mikropartikkellen siirtolaitteen magneettiyksikön eri sovellutusmuotoja leikattuna.
- Kuviot 2A-2G esittävät kaaviollisesti magneettiyksikön magneettien eri sovellutusmuotoja ja niiden magneettikenttiä.
- Kuviot 3A ja 3B esittävät kaaviollisesti magneettiyksikön sovellutusmuotoja sijoitettuna
- 25 mikropartikkeleita sisältävään liuokseen.
- Kuviot 4A-4B vastaavat kuvioita 3A ja 3B ja esittävät magneettiyksikön toisia sovellutusmuotoja liuoksessa.
- Kuviot 5A-5E esittävät venymättömällä suojakalvolla ja pituussuuntaisesti magnetoidulla magneetilla varustetun magneettiyksikön sovellutusmuotoja liuoksessa.
- 30 Kuviot 6A-6E esittävät venymättömällä suojakalvolla ja poikittaissuuntaisesti magnetoidulla magneetilla varustetun magneettiyksikön sovellutusmuotoja liuoksessa.
- Kuviot 7A-7E esittävät venyvällä suojakalvolla ja pituussuuntaisesti magnetoidulla magneetilla varustetun magneettiyksikön sovellutusmuotoja liuoksessa.
- Kuviot 8A-8E esittävät venyvällä suojakalvolla ja poikittaissuuntaisesti magnetoidulla
- 35 magneetilla varustetun magneettiyksikön sovellutusmuotoja liuoksessa.
- Kuviot 9A-9G esittävät magneettiyksikön käytön vaiheita siirrettäessä mikropartikkeleita astiasta toiseen.

- Kuvio 10 esittää käsin käytettävää mikropartikkelien siirtolaitetta sivulta päin nähtynä ja leikattuna.
- Kuvio 11 esittää käsin käytettävää mikropartikkelien monikanavasiirolaitetta sivulta päin nähtynä ja leikattuna.
- 5 Kuvio 12 esittää kaaviollisesti siirtolaitteautomaattia.
- Kuvio 13 esittää vielä erästä magneettisyksikön sovellutusmuotoa sivulta päin nähtynä ja osittain leikattuna.
- Kuvio 14 esittää keksinnön mukaista reaktoriaestias sivulta päin nähtynä ja leikattuna.
- Kuvio 15 esittää keksinnön mukaista reaktoriyksikköä (engl. sivulta päin nähtynä ja osittain leikattuna).
- 10 Kuvio 16 esittää kuvion 15 reaktoriyksikköä vaaka-asennossa.
- Kuvio 17 esittää keksinnön mukaista olosuhdekaappia (engl. environmental cabinet) perspektiivikuvana.
- Kuvio 18 esittää koeputkea (engl. tube) sivulta päin nähtynä ja leikattuna.
- 15 Kuvio 19 esittää sivulta päin nähtynä ja leikattuna koeputken yhteydessä olevaa magneettisyksikköä, jonka holkki on ensimmäisessä asennossa.
- Kuvio 20 vastaa kuviota 19 ja esittää tilannetta, jossa magneettisyksikön holkki on toisessa asennossa.
- Kuvio 21 vastaa kuviota 19 ja esittää tilannetta, jossa magneettisyksikön holkki on kolmannessa asennossa.
- 20 Kuvio 22 vastaa kuviota 18 ja esittää koeputkea toisessa tilanteessa.
- Kuvio 23 esittää toisenlaisella suojakalvolla varustettua magneettisyksikön sovellutusmuotoa sivulta päin nähtynä ja osittain leikattuna.
- Kuvio 24 vastaa kuviota 23 ja esittää magneettisyksikön toimintaa toisessa vaiheessa.
- 25 Kuvio 25 vastaa kuviota 23 ja esittää magneettisyksikön toimintaa kolmannessa vaiheessa.
- Kuvio 26 vastaa kuviota 23 ja esittää magneettisyksikön toimintaa neljännessä vaiheessa.
- Kuvio 27 esittää vielä eräällä toisenlaisella suojakalvolla varustettua magneettisyksikön sovellutusmuotoa sivulta päin nähtynä ja osittain leikattuna.
- 30 Kuvio 28 esittää kaaviollisesti sivulta päin nähtynä ja leikattuna useita rinnakkaisia magneettisyksiköitä, jolla on yhteinen levymälinen suojakalvo.
- Kuvio 29 vastaa kuviota 28 ja esittää rinnakkaisia magneettisyksiköitä toisen sovellutusmuodon mukaisena.
- 36 Kuvio 30 vastaa kuviota 28 ja esittää rinnakkaisia magneettisyksiköitä kolmannen sovellutusmuodon mukaisena.

- Kuvio 31 vastaa kuviota 28 ja esittää rinnakkaisia magneettiyksiköitä neljännen sovellutusmuodon mukaisena.
- Kuvio 32 kaaviollisesti päältä päin nähtynä rinnakkaisia magneettiyksiköitä, jotka on sijoitettu ympyrän muotoon.
- 5 Kuvioissa 33-40 on esitelty esimerkkien avulla kaaviollisesti keksinnön erilaisia sovellutusmuotoja.

#### PIIRUSTUSTEN YKSITYISKOHTAINEN SELOSTUS

Kuviossa 1A on esitelty keksinnön mukaisen magneettiyksikön 10 sovellutusmuoto, - johon  
 10 kuuluu ferromagneettinen putki tai holkki 12, jonka sisällä on tankomainen kestomagneetti 13, jota liikutetaan tangon tai siirtotapin 11 välityksellä. Magneetin 13 ja tangon 11 välistä liittymäkohtaa on merkitty viitenumerolla 14 ja putken 12 päässä olevaa aukkoa viitenumerolla 15. Liikuttamalla tankoa 11 ja sen sisällä olevaa putkea 12 aksiaalisesti toistensa suhteen, tankomaisen magneetin 12 pää työntyy ulos putken 12 pään aukosta  
 15 15. Toisin sanoen tankoa 11 ja siihen liitettyä magneettia 13 voidaan liikuttaa putken 12 sisällä, tai putkea 12 voidaan liikuttaa, jolloin tanko 11 ja magneetti 13 pysyvät paikoillaan. Vaihtoehtoisesti myös molemmat osat 12 ja 13 voivat liikkua. Kaikilla näillä vaihtoehtoisilla tavoilla saadaan magneetti 13 työnnettyksi ulos putken 12 päässä olevasta aukosta 15 ja jälleen takaisin putken 12 sisään.

20

Kuviossa 1A tangon 11 halkaisija on suurempi kuin magneetin 13 halkaisija. Magneetti 13 on liitetty tankoon 11 siten, että magneetin 13 pää on työnnetty tangon 11 päässä olevaan koloon. Kolon ja magneetin 13 välillä on riittävän tiukka sovite, joka pitää magneetin 13 ja tangon liitettynä toisiinsa. Koska ferromagneettisen putken 12 sisähalkaisija on tässä  
 25 ratkaisussa suurempi kuin magneetin 13 halkaisija, niin joissakin tapauksissa se saattaa olla haltailista.

Kuviossa 1B on esitelty magneettiyksikön 10 toinen sovellutusmuoto, jossa magneetin 13 ja tangon 11 halkaisijat ovat yhtä suuria. Magneetin 13 ja tangon 11 välisenä liitoselimenä  
 30 on ohutseinäinen holkki 16, jonka sisään sekä tangon 11 että magneetin 13 päät on työnnetty. Ohutseinäisen holkin 16 sisähalkaisija on muodostettu sellaiseksi, että holkin 16 ja magneetin 13 välinen sovite sekä holkin 16 ja tangon 11 välinen sovite ovat riittävän tiukat pitämään nämä osat liitettynä toisiinsa. Koska holkki 16 on ohutseinäinen, niin magneetin 13 halkaisija voi olla lähes yhtä suuri kuin ferromagneettisen putken 12  
 35 sisähalkaisija.



Kuviossa 1C on esitetty magneettiyksikön 10 kolmas sovellutusmuoto, jossa ferromagneettisen putken 12 pää suuaukko 15 on supistettu. Näin saadaan magneetin 13 ja putken 12 välys sopivaksi, vaikka putken 16 sisähalkaisija olisikin selvästi suurempi kuin magneetin 13 halkaisija.

5

Kuviossa 1D on esitetty magneettiyksikön 10 neljäs sovellutusmuoto, jossa magneetin 13 ja tangon 11 välinen liitos 14 on toteutettu liimalla. Tässä ratkaisussa magneetin 13 ja tangon 11 halkaisijat ovat yhtä suuret, jolloin niiden ja putken 11 sisäpinnan väli voidaan tehdä sopivan pieneksi.

10

Kuviossa 1E on esitetty magneettiyksikön 10 viides sovellutusmuoto, jossa magneetin 13 ja tangon 11 liittäminen toisiinsa magneetin 13 oman magneettivoiman avulla siten, että magneetti 13 vetää tangon 11 riittävän tiukasti kiinni magneettiin 13. Ratkaisu toimii ainoastaan, jos tanko 11 on ferromagneettista materiaalia. Myös tässä ratkaisussa magneetin 13 ja tangon 11 halkaisijat ovat yhtä suuret.

15

Kuviossa 1F on esitetty magneettiyksikön 10 kuudes sovellutusmuoto, jossa tangon 11 päähän muodostettu uloke, joka on työnnetty magneetin 13 päähän muodostettuun koloon. Liitoskohdassa 14 ulokkeen ja kolon välinen sovite on tehty riittävän tiukaksi pitämään nämä osat liitettyinä toisiinsa.

20

Kuvio 1G on esitetty magneettiyksikön 10 seitsemäs sovellutusmuoto, jossa on kestopagneetin asemesta sähkömagneetti. Tässä ratkaisussa tanko 11 on ferromagneettista materiaalia ja sen toisen pää ympärille on sijoitettu käämi 27, joka induoi magneettikentän tankoon 11 silloin, kuin jännitelähde on kytketty käämiin 27. Näin ollen tanko 11 toimii sähkömagneettina, jolloin erillistä, siihen liitettävää kestopagneettia ei tarvita.

25

Kuviossa 2A on esitetty magneettiyksikön 10 sovellutusmuoto, jossa magneetin 13 kiinnitystapa vastaa kuvion 1B ratkaisua eli magneetti 13 on liitetty tankoon 11 holkin avulla. Kuviossa 1B ei ollut kuitenkaan mainittu mitään magneetin magnetointisuunnasta. Kuvion 2A magneettiyksikössä 10 magneetin 13 magnetointisuunta on magneetin 13 pituusakselin suuntainen.

30

Kuviossa 2B esitetty magneettiyksikön 10 sovellutusmuoto vastaa kuvion 2A ratkaisua muissa suhteissa, mutta magneetin 13 magnetointisuunta on poikittainen eli kohtisuoraan

35

magneetin 13 pituusaksella vastaan. Sekä kuviossa 2A että kuviossa 2B magneetti 13 voidaan kuitenkin liittää tankoon 11 myös millä muulla tavalla tahansa.

5 Kuvioissa 2C-2G on esitetty kaaviollisesti magneettiyksikön 10 magneetin 13 aikaansaama magneettikenttä eri sovellusmuodoissa.

Kuviossa 2C on esitetty magneettiyksikön 10 magneetti 13 on magnetoitu pituussuuntaisesti, kuten kuviossa 2A. Kuvion 2C esittämässä tilanteessa magneetin 13 toinen pää on osittain työnnetty putkesta 12 ulos, jolloin sen magneettikenttä 17 ulottuu 10 magneetin 13 kauimmaisesta päästä putken 12 päähän. Suurin magneettivuotiheys tällä ratkaisulla saadaan magneetin 13 vapaan pääri ympärillä, jota alueella on kuviossa 2C merkitty viitenumerolla 18. Kuvatulla ratkaisulla saadaan mikropartikkelit kerääntymään pääosin vain magneetin 13 lähien päähän, jolloin kerättävän partikkelimassan määrä on rajoitettu.

15 Kuviossa 2D on esitetty magneettiyksikön 10 magneetin 13 magneettikenttä silloin, kuin magneetin 13 magnetointiakseli on poikkisuuntainen eli kuvion 2B mukainen. Tässä tapauksessa aikaansaatui magneettikenttä 19 on tasaisesti jakautuneena koko magneetin 13 yli, jolloin mikropartikkelien keräyspinta on suurin mahdollinen.

20 Mikäli kuitenkin halutaan rajata magneettiyksikön 10 magneetin 13 keräyspintaa, niin magneetti 13 voidaan jättää osittain ferromagneettisen putken 12 sisään. Tällainen tilanne on esitetty kuviossa 2E. Tällöin magneetin 13 keräyspinta 20 on toman pienempi kuin kuvion 2D esittämässä tilanteessa.

25 Kuvioissa 2F ja 2G on esitetty kaaviollisesti poikkileikkaukset kahdesta eri tavalla poikittain magnetoidusta magneettiyksikön 10 magneetista 13. Kuviossa 2F magneetti 13 on jaettu pituusakselin suuntaisella tasolla kahteen osaan. Kuviossa 2G magneetti 13 on jaettu vastaavasti neljään pituussuuntaiseen osaan. Kuvioista 2F ja 2G nähdään, että 30 magneettikentät ovat niissä erilaisia, koska magneettikentät sijoittuvat hieman eri tavoin. Kuitenkin molemmat ratkaisut ja kaikki niiden variaatiot ovat yhtä käyttökelpoisia.

Kuvioissa 3A on esitetty magneettiyksikkö 10 mikropartikkelien 22 keräämiseksi astlassa 26, kuten koeputkessa olevasta liuoksesta 23. Suojakalvolla 21 suojattu 35 magneetti 13 on kiinnitetty tankoon 11, joka ei ole ferromagneettinen. Kuviossa 3A magneetti 13 on kokonaan nestepinnan 25 alapuolella niin, että magneetin 13 etäisyys nestepinnasta 25 on h. Kuvion 3A magneetti 13 on magnetoitu magneetin 13 pituusakselin

suuntaisesti. Mikropartikkelit 22 kerääntyvät tällöin astiassa 26 olevasta liuksesta 23 magneetin 13 kummankin navan 24a ja 24b kohdalle suojakalvon 21 ulkopuolelle, sekä aivan suojakalvon 21 kärkeen, josta tangon 11 ja magneetin 13 liitoskohtaan 14. Tämä on normaali tilanne silloin kun magneetti 13 on kokonaan liuksen 23 nestepinnan 25 alapuolella.

Kuviossa 3B on esitetty magneettisyyskoneen 10 toinen sovellutusmuoto, johon myös kuuluu suojakalvolla 21 suojattu magneetti 13, joka on kokonaan nestepinnan 25 alapuolella etäisyydellä h nestepinnasta 25. Tämä sovellutusmuoto vastaa kuvion 3A sovellutusmuotoa muissa suhteissa, mutta magneetti 13 on magnetoitu poikittain. Kuviossa 3B nähdään, että mikropartikkelit 22 kerääntyvät nyt suurelle alueelle suojakalvon 21 ulkopuolelle. Edullisinta olisi kuitenkin saada kaikki mikropartikkelit 22 keräytyä aivan magneettisyyskoneen 10 kärjen alaosaan. Se on erityisen edullista silloin, kun mikropartikkelit 22 halutaan siirtää pieneen nestetilavuuteen. Kuviossa 3B mikropartikkelit 22 eivät keräänny pienelle alueelle elvällä erityisesti suojakalvon 21 alaosaan tuntumaan. Siksi tämä vaihtoehto ei ole erityisen edullinen silloin, kun halutaan konsentroida mikropartikkeleita 22 pieniin nestetilavuuksiin.

Kuviossa 4A on esitetty koeputkessa 26 olevaan liukseen 23 sijoitettu magneettisyyskone 10 sekä mikropartikkelien 22 kerääntyminen magneettisyyskoneen 10 suojakalvolla 21 suojattujen magneettien 13 alaosaan tuntumaan. Kuviossa 4A magneetti 13 ja molemmat magneettinavat 24a ja 24b ovat kokonaan nestepinnan 25 alapuolella. Mikropartikkelit eivät kuitenkaan keräänny muualle kuin suojakalvon 21 alaosaan, koska magneetin 13 ylänapa 24b on onnistunut oikosulkemaan viemällä ferromagneettinen putki 12 sopivasti magneetin 13 päälle. Magneetin 13 ylänavan 24b kohdalla ferromagneettisen putken 12 ulkopuolella ei ole magneettikenttää, minkä vuoksi suojakalvon 21 ulkopuolella ei havaita mikropartikkeleita 22. Kuvattulla magneettisyyskoneella 10 voidaan konsentroida mikropartikkeleita 22 pieniin nestetilavuuksiin vaikka magneetti 13 on kokonaisuudessaan nestepinnan 25 alapuolella ja se on kiinnitetty ei-ferromagneettiseen tankoon 11.

Kun kuvion 4A esittämässä tilanteessa magneetti 13 siirretään kokonaan ferromagneettien putken 12 sisään, niin magneetin 13 magneettikenttä poistuu lähes kokonaan. Mikropartikkelit 22 voidaan näin vapauttaa suojakalvon 21 pinnalta yksinkertaisesti vain viemällä magneetti 13 kokonaan ferromagneettisen putken 12 sisälle. Mikropartikkeleita 22 voidaan siirtää astioista 26 toisiin suojakalvon 21 pinnalle sitoutuneena, jolloin magneetti 13 on sopivasti ferromagneettisen putken 12 ulkopuolella.

Kuviossa 4B on esitetty magneettiyksikkö 10, joka vastaa kuvion 4A sovellutusmuotoa muissa suhteissa, mutta magneetti on magnetoitu poikittain. Kuviossa 4B poikittaissuunnassa magnetoidun magneetin 13 magneettikenttää on pienennetty ferromagneettisen putken 12 avulla. Kuvion 4B esittämässä tilanteessa magneetti 13 on enää hyvin vähän ferromagneettisen putken 12 ulkopuolella. Kuviossa 4B nähdään, että poikittaissuuntaisesti magnetoidulla pitkällä magneetilla 13 ja suojaputkella 12 voidaan yksinkertaisesti konsentroida mikropartikkelit 22 aivan suojakalvon 21 alaosaan. Näin ollen molemmissa kuvioissa 4A ja 4B on esitetty edulliset ja tehokkaat menetelmät ja laitteet mikropartikkeleiden käsittelemiseksi pienissä nestetilavuuksissa.

10

Kuvioissa 5A-5C on esitetty vaiheittain mikropartikkelien 22 kerääminen venymättömällä suojakalvolla varustetun magneettiyksikön 10 avulla liuoksesta 23. Magneetti 13 ja ferromagneettinen putki 12 ovat liikutettavissa toistensa suhteen aksiaalisesti ja magneetti 13 on magnetoitu sen pituusakselin suuntaisesti.

15

Kuvioissa 5A-5E on esitetty myös erilaisia tapoja konsentroida mikropartikkelit ferromagneettisen putken 12 ja magneetin 13 avulla aivan suojakalvon 21 alaosaan ja vapauttaa ne esimerkiksi pieniin nestetilavuuksiin.

20

Kuviossa 5A on esitelty magneettiyksikkö 10, jonka magneetti 13 on työnnetty ulos ferromagneettisen tangon 11 avulla ferromagneettisesta putkesta 12, jolloin magneetin 13 magneettikenttä on pääasiassa suojakalvon 21 alaosassa. Tällöin myös mikropartikkelit 22 keräytyvät suojakalvon 21 alaosaan. Myöskään seuraavissa esimerkeissä magneettia liikuttava tanko 11 ei ole ferromagneettinen.

25

Kuviossa 5B on esitelty kuvion 5A magneettiyksikkö 10 siten, että sen magneetti 13 on toisessa asennossa. Kuviossa 5B magneetti 13 on siirretty lähes kokonaan ferromagneettisen putken 12 sisään putken pysyessä paikallaan. Tällöin osa mikropartikkeleista 22 siirtyy liuoksessa 23 suojakalvoa 21 pitkin ylöspäin.

30

Kuviossa 5C on esitetty kuvion 5B magneettiyksikkö 10 siten, että sen magneetti 13 on vedetty kokonaan putken 12 sisään, jolloin mikropartikkelit 22 ovat hajaantuneet liuokseen 23. Näin ollen magneettikenttä ei silloin, kun magneettia 13 liikutetaan suojakalvon 21 alaosasta ylöspäin, ole paras mahdollinen keräämään mikropartikkeleita 22 suojakalvon 21 sivuunsa. Se johtuu magneetin 13 magneettikentän ja sen magneettinapojen sijainnista ja vetovoimasta käytettävän suojakalvon 21 suhteen. Näin ollen tämä vaihtoehto on mahdollinen, muttei edullisin mikropartikkelien irrottamiseen suojakalvon 21 pinnalta.

35

Optimoimalla mikropartikkelit 22 ja magneetin 13 liikenopeus ylöspäin voidaan kuitenkin saavuttaa hyvä lopputulos, eli mikropartikkelit jäävät alvan suojakalvon 21 alaosaan tuntumaan:

- 5 Kuviossa 5D on esitetty vaihtoehtoinen ja tehokas tapa irrottaa mikropartikkelit 22 hallitusti kuvion 5A magneettiyksikön 10 suojakalvon 21 alaosasta esimerkiksi pieniin tilavuuksiin. Kuviossa 5B esitetyn magneetin 13 ylöspäin tapahtuvan liikkeen asemesta kuviossa 5D liikutelaankin nyt ferromagneettista putkea 12 alaspäin. Kuvioista nähdään, että tällöin mikropartikkelit 22 eivät silmy suojakalvoa 21 pitkin ylöspäin.
- 10 Kuviossa 5E on esitetty kuvion 5D magneettiyksikkö 10 siten, että ferromagneettinen putki 12 on siirretty kokonaan magneetin 13 päälle. Kuvioista nähdään, että tällöin mikropartikkelit 22 jäävät liuoksessa 23 paremmin paikoilleen koeputken 26 alaosaan magneettiyksikön 10 pään läheisyyteen.
- 15 Kumpikaan kuvioissa 5B-5C tai kuvioissa 5d-5E esitetyistä tavoista ei kuitenkaan ole erityisen edullinen erittäin suurten mikropartikkelimassojen keräämiseen ja käsittelyyn.
- 20 Kuvioissa 6A-6E on esitetty vaiheittain mikropartikkelien 22 kerääminen venymättömällä suojakalvolla 21 varustetun magneettiyksikön 10 avulla, jossa magneettia 13 tai ferromagneettista putkea 12 liikutetaan ja kun magneetti 13 on magnetoitu poikittain.
- 25 Kuviossa 6A on esitetty magneettiyksikkö 10, jonka polkittaissuunnassa magnetoitu magneetti 13 on työnnetty ulos ferromagneettisesta putkesta 12, joka peittää ainoastaan pienen osan magneetista 13. Tällöin mikropartikkelit 22 keräytyvät magneettiyksikön 10 suojakalvon 21 ulkopuolelle.
- 30 Kuviossa 6B on esitetty kuvion 6A magneettiyksikkö 10 asennossa, jossa magneetti 12 on siirretty ylöspäin lähes kokonaan ferromagneettisen putken 12 sisään. Tällöin suurin osa suojakalvon 21 alaosassa olleista mikropartikkeleista 22 siirtyy magneetin 13 mukana ylöspäin.
- 35 Kuviossa 6C on esitetty kuvion 6B magneettiyksikkö 10 asennossa, jossa magneetti 13 on kokonaan ferromagneettisen putken 12 sisällä. Tällöin mikropartikkelit 22 vapautuvat ympäröivään liuokseen 23. Näin ollen tämä tapa ei sovi mikropartikkelien 22 konsentroimiseen suojakalvon 21 alaosaan ja siirtämiseen esimerkiksi pieneen nestetilavuuteen.

Kuviossa 6D on esitetty kuvion 6A magneettiyksikkö 10 asennossa, jossa ferromagneettista putkea 12 on siirretty alaspäin lähes kokonaan magneetin 13 päälle. Mikropartikkelit 22 liikkuvat samalla putken 12 mukana sopivasti alaspäin.

5

Kuviossa 6E on esitetty kuvion 6D magneettiyksikkö 10 asennossa, jossa ferromagneettinen putki 12 peittää magneetin 13 kokonaan. Kuviosta nähdään, että tällä tavoin mikropartikkelit 22 voidaan tehokkaasti konsentroida magneettiyksikön 10 suojakalvon 21 alaosaan tuntumaan. Näin ollen tämä ratkaisu sopii hyvin sekä suurten  
10 mikropartikkelimäärien keräämiseen että mikropartikkelien konsentroimiseen pieniin nestetilavuuksiin.

Kuvioissa 7A-7E on esitetty vaiheittain mikropartikkelien 22 kerääminen venyvällä suojakalvolla 21 varustetun magneettiyksikön 10 avulla siten, että liikutetaan joko  
15 magneettia 13 tai ferromagneettista putkea 12. Magneetti 13 on magnetoitu pituussuuntaisesti.

Kuviossa 7A on esitetty magneettiyksikkö 10, jossa pituussuuntaisesti magnetoitu magneetti 13 on työnnetty ulos ferromagneettisesta putkesta 12 niin, että se samalla  
20 venyttää venyvää suojakalvoa 21. Tällöin mikropartikkelit 22 keräytyvät magneetin 13 päälle läheisyyteen venytetyn suojakalvon 21 alaosaan. Suojakalvon 21 venytymisen johdosta suojakalvon 21 paksuus on samalla pienentynyt, jolloin magneettikenttä on samalla kasvanut suojakalvon 21 ohuutensa myötä.

25 Kuviossa 7B on esitetty kuvion 7A magneettiyksikkö 10 asennossa, jossa magneetti 13 on liikutettu ylöspäin ferromagneettisen putken 12 sisälle. Samanaikaisesti myös venytetty suojakalvo 21 palautuu ylöspäin. Tästä seuraa se, että ylöspäin liikkuvan suojakalvon 21 alaosaan kohdistuu edelleen riittävä magneettikenttä pitämään mikropartikkelit 22  
30 kerääntyneenä suojakalvon 21 päälle.

Kuviossa 7C on esitetty kuvion 7B magneettiyksikkö 10 asennossa, jossa magneetti 13 on vedetty kokonaan putken 12 sisälle ja mikropartikkelit 22 ovat vapautuneet magneettikentästä. Tällä tavalla mikropartikkelit 22 voidaan hyvin konsentroida suojakalvon 21 alaosaan ja siirtää edelleen pieniin nestetilavuuksiin.

35

Kuviossa 7D on esitetty kuvion 7A magneettiyksikkö 10 asennossa, jossa ferromagneettista putkea 12 on liikutettu alaspäin magneetin 13 päälle. Magneetti 13 ei

liiku vaan pitää suojakalvon 21 edelleen venytettynä. Magneetikenttä on suojakalvon venytyksestä johtuen erittäin suuri ja mikropartikkelit 22 pysyvät erittäin hyvin kiinni suojakalvossa 21.

- 5 Kuviossa 7E on esitetty kuvion 7D magneettiyksikkö 10 asennossa, jossa ferromagneettinen putki 12 on siirretty kokonaan magneetin 13 päälle. Tällöin magneetikenttä poistuu ja mikropartikkelit 22 vapautuvat nesteeseen 23. Tämä tapa soveltuu erittäin hyvin konsentroimiseen pieniin nestetilavuuksiin.
- 10 Kuvioissa 8A-8E on esitetty vaiheittain mikropartikkelien 22 kerääminen venyvällä suojakalvolla 21 varustetun magneettiyksikön 10 avulla siten, että liikutetaan joko magneettia 13 tai ferromagneettista putkea 12. Magneetti 13 on magnetoitu poikittain.  
  
Kuviossa 8A on esitetty magneettiyksikkö 10, jossa poikittaissuuntaisesti magnetoitu magneetti 13 on työnnetty ulos ferromagneettisesta putkesta 12 niin, että se samalla venyttää venyvää suojakalvoa 21. Tällöin mikropartikkelit 22 keräytyvät magneetilla 13 venytelyn suojakalvon 21 ympärille erittäin suurelle alueelle.
- 15 Kuviossa 8B on esitetty on esitetty kuvion 8A magneettiyksikkö 10 asennossa, jossa magneettia 13 on liikutettu ylöspäin ferromagneettisen putken 12 sisälle. Kun magneettia 13 liikutetaan ylöspäin, niin venytetty suojakalvo 21 palautuu samalla alkuperäiseen muotoonsa eli magneetin 13 mukana ylöspäin. Mikropartikkelit 22 liikkuvat mukana ja koko mikropartikkelimaassa voidaan konsentroida pienelle alueelle suojakalvon 21 kärkiosaan.
- 20 Kuviossa 8C on esitetty on esitetty kuvion 8B magneettiyksikkö 10 asennossa, jossa magneetti 13 on vedetty kokonaan ferromagneettisen putken 12-sisälle. Tällöin mikropartikkelit 22 vapautuvat magneetikentästä liuokseen 23.
- 25 Kuviossa 8D on esitetty kuvion 8A magneettiyksikkö 10 asennossa, jossa ferromagneettista putkea 12 on liikutettu alaspäin magneetin 13 päälle. Mikropartikkelit 22 voidaan tässä, kuten kuvioissa 8B ja 8C kerätä suuresta näytetilavuudesta ja konsentroida pienelle alueelle suojakalvon kärkiosaan.
- 30 Kuviossa 8E on esitetty on esitetty kuvion 8D magneettiyksikkö 10 asennossa, jossa ferromagneettinen putki 12 on siirretty kokonaan magneetin 13 päälle. Tällöin magneetikenttä poistuu ja mikropartikkelit 22 vapautuvat magneetikentästä liuokseen 23.
- 35

Kuvioissa 9A-9G on esitelty vaiheittain magneettiyksikön 10 käyttömenetelmä suuren mikropartikkelimassan keräämiseksi suuresta nestetilavuudesta ja mikropartikkelien konsentroiminen pieneen tilavuuteen.

- 5 Kuviossa 9A on esitetty astia 26a, jossa mikropartikkelit 22 ovat nesteessä 23 suuressa tilavuudessa.

- 10 Kuviossa 9B on esitetty keksinnön mukainen magneettiyksikkö 10, joka on sijoitettu kuvion 9A astiaan 26. Magneettiyksikön 10 avulla mikropartikkelit 22 siirretään liuksesta 23a magneettiyksikön 10 suojakalvon 21 pinnalle. Kuvion 9B magneettiyksikössä 10 on venymättömällä suojakalvolla 21 suojattu magneetti 13. Joka on magnetoitu poikittain. Tällaisella magneettiyksiköllä 10 mikropartikkelit 22 saadaan kerätyksi suurelle alueelle suojakalvon 21 pinnalle.

- 15 Kuviossa 9C on esitelty toinen astia 26b, jossa on pieni tilavuus nestettä 23b. Tähän astiaan 26b siirretään kuvion 9A astiasta 26a magneettiyksiköllä 10 kerätyt mikropartikkelit 22. Kuviossa 9C esitetty astia 26b on mitoiltaan ja nestetilavuudeltaan sopivasti valittu käytettäväksi esitetyn magneettiyksikön 10 kanssa.

- 20 Kuvioissa 9D-9F on esitetty vaiheittain suuresta tilavuudesta kerättyjen mikropartikkelien 22 vapauttamisprosessi pieneen tilavuuteen.

- 25 Kuviossa 9D on esitetty astiaan 26b upotettu magneettiyksikkö 10. Tällöin on saavutettu se tavoite, jonka mukaan upotettaessa magneettiyksikkö 10 nesteeseen 23b pienen nestetilavuuden nestepintaa saadaan sopivasti nostetuksi yli sen rajan, johon ylimmillään mikropartikkeleja 22 on kerätty kuvion 9B esittämästä suuresta astiasta 26a. Menetelmässä käytetään hyväksi sitä, että nesteeseen upotettuna kappale syrjäyttää tilavuutensa verran nestettä. Kun käytetään sopivan mallista ja muotoista astiaa sekä siihen kooltaan ja muodoltaan sopivaa magneettiyksikköä, niin nesteen pinta astiassa 30 nousee juuri halutulle korkeudelle. Olennaista tällöin on se, että partikkelit jäävät nestepinnan alapuolelle.

- 35 Kuviossa 9E on esitetty kuvion 9D magneettiyksikkö 10 tilanteessa, jossa ferromagneettista putkea 12 liikutetaan alaspäin. Tällöin mikropartikkelit 22 vapautuvat suojakalvon 21 pinnalta ylhäältä lähtien alaspäin.



Kuviossa 9F on esitelty kuvion 9E magneettiyksikkö 10 seuraavassa tilanteessa, jossa ferromagneettinen putki 12 on siirretty kokonaan magneetin 13 päälle ja putken 12 ulkopuolella ei enää ole magneettikenttää pitämään mikropartikkeleita 22 kiinni suojakalvon 21 pinnalla. Mikropartikkelit 22 on nyt kokonaan vapautettu ympäröivään

5 nesteeseen 23b.

Kuviossa 9G on esitetty tilanne, jossa magneettiyksikkö 10 on siirretty pois astiasta 26b, jolloin nestepinta on laskenut takaisin lähtötilanteeseen. Toimenpiteen lopputuloksena suuri mikropartikkelimassa on voitu siirtää tehokkaasti ja yksinkertaisesti pleneen

10 tilavuuteen, kuten on esitetty kuviossa 9G. Tästä voidaan jatkaa konsentrointia edellä esitettyyn tapaan tai edellisissä kuvioissa esitettyjä menetelmiä käyttäen. Mikropartikkelien 22 siirtoja ja konsentroituvaiheita voidaan tehdä sopivasti eri tavoin tarpeen mukaan.

Kuviossa 10 on esitetty esimerkki käsin käytettävästä, keksinnön mukaisesta

15 mikropartikkelien siirtolaitteesta 30. Siirtolaitteeseen 30 kuuluu runkoputki 31, sen jatkeena oleva soviteholkki 32 ja keksinnön mukainen magneettiyksikkö 10 siirtolaitteen päässä. Magneettiyksikössä 10 on magneetti 13, tanko tai siirtotappi 11, ferromagneettinen putki 12 ja venyvä tai jäykkä suojakalvo 21 painettuna soviteholkin 32 päälle.

20 Magneettiyksikön 10 magneettia 13 liikuttava ei-ferromagneettinen tanko 11 ulottuu siirtolaitteen 30 yläosaan asti, jossa se on liitetty magneetin siirtoluistiin 37. Tätä siirtoluistia 37 liikutetaan käsin magneetinsiirtotapin 38 avulla, joka työntyy runkoputken 31 seinästä ulos pitkänomaisen aukon 30 kautta. Magneetinsiirtotappia 38 voidaan työntää ylöspäin ja alaspäin aukossa 39, jolloin siirtoluisti 37 ja sen mukana myös tanko 11 ja

25 magneetti 13 liikkuvat ylöspäin ja alaspäin.

Edelleen mikropartikkelien siirtolaitteessa 30 on myös mekanismi ferromagneettisen putken 12 liikuttamiseksi aksiaalisuunnassa. Mekanismiin kuuluu putken siirtoyksikkö 34 ja putkensiirtotappi 35, joka myös työntyy runkoputken 31 läpi toisesta pitkänomaisesta

30 aukosta 36. Myös putkensiirtotappia 35 voidaan työntää ylöspäin ja alaspäin aukossa 36, jolloin putken siirtoyksikkö 34 ja samalla myös ferromagneettinen putki 12 liikkuvat ylöspäin ja alaspäin.

Mikropartikkelien siirtolaitetta 30 pidetään kädessä siten, että sormella voidaan helposti

35 liikuttaa sekä magneetinsiirtotappia 38 että putkensiirtotappia 35.

Kuviossa 11 on esitetty eräs esimerkki käsin käytettävästä mikropartikkelien monikanavasiirolaitteesta 40, jonka magneettiyksikköryhmään 41 kuuluu kahdeksan keksinnön mukaisia magneettiyksikköä 10. Magneettiyksikköryhmän 41 magneettiyksiköt 10 sijaitsevat rivissä. Jokaisessa magneettiyksikössä 10 on magneetti 13, siirtotappi 11, ferromagneettinen putki 12 ja suojakalvo 21. Kuvion 11 esittämässä esimerkissä ei ole esitetty mekanismeita magneettiyksiköiden 10 ferromagneettisten putkien 12 liikuttamiseksi ylöspäin ja alaspäin, kuten edellisessä esimerkissä. Kuviossa on esitetty esimerkin vuoksi ainoastaan yksinkertainen mekanismi magneettiyksiköiden 10 kaikkien kahdeksan magneetin 13 liikuttamiseksi samanaikaisesti.

10

Kuviossa 11 magneettiyksiköiden 10 magneettien 13 mekanismin kuuluu yhdystanko 43, johon kaikkien magneettien 13 tangot 11 on liitetty. Monikanavasiirolaitteen 40 magneetteja 13 liikutetaan alaspäin ja ulos ferromagneettisista putkista 12 painamalla sormella osittain siirtolaitteen ulkopuolella olevasta "liipasimesta" 46, joka on välitangon 46 välityksellä liitetty magneettien 13 yhdystankoon 43. Magneetit 13 palautuvat takaisin yläasentoonsa yhdystankoon 43 liitettyjen palautusjousien 44 avulla.

15

Erään mikropartikkelien monikanavasiirolaitteen 40 sovellutusmuodon mukaan kaikki magneetit samanaikaisesti, vaan että tarvittaessa voidaan lukita osa magneeteista 13 haluttuun asentoon. Lisäksi eri magneettiyksiköissä 10 voi olla mekanismi, jonka avulla myös ferromagneettisia putkia voidaan liikuttaa ylöspäin ja alaspäin.

20

Kuviossa 12 on esitetty mikropartikkelien siirtolaitteautomaatti 50, jossa on keksinnön mukaisia magneettiyksiköitä rivissä tai kuviossa 12 esitetyn mukaisessa  $n \times m$  matriisissa 51. Magneettiyksiköt 10 ovat kiinni kontrolliyksikössä 52, jossa on tarvittava mekaniikka magneettien että ferromagneettisten putkien siirtämiseen pystysuunnassa. Kontrolliyksikkö 52 voi sekä liikkua ylöspäin ja alaspäin nuolen 54 suunnassa ja/tai nuolen 53 mukaisesti sivusuunnassa. Magneettiyksiköiden alle tason 57 päälle sijoitetaan näytelevy 55 joko manuaalisesti tai laboratoriorobotin avulla. Näytelevyssä 55 on näytekalvoja joko yhdessä rivissä tai matriisissa 56 kuten kuviossa 12 nähdään. Automaattiin 50 kuuluu vielä toinen kontrolliyksikkö 58, joka hoitaa siirtologiikan ja sisältää kaiken tarvittavan elektronikan automaatin toimilaitteiden ohjaamiseksi ja vuorovaikutuksen hoitamiseksi muiden laboratoriolaitteiden kanssa.

25

30

Kuviossa 13 on esitetty eräs keksinnön mukainen magneettiyksikkö 10, jossa on poikittain magnetoitu magneetti 13 ja ferrometalliputki tai holkki 12, joka on aksiaalisuunnassa siirrettävissä magneetin 13 päälle. Magneettia 13 suojaa suojakalvo 21, joka voi olla

35

venyvää tai kovaa materiaalia, edullisimmin muovia tai silikonikurnia. Lisäksi magneettiyksikköön 10 kuuluu kiinnityslaippa 33 ja pyöritys akseli 28, jonka avulla magneettiyksikön 10 sisällä olevaa magneettia 13 ja suojakalvoa 21 voidaan pyörittää pituusakseliensa ympäri.

5

Kuviossa 14 on esitetty keksinnön mukainen reaktoriastia 61, jossa on venttiileillä 63 varustettuja kanavia 62. Reaktoriastiassa 61 on prosessissa tarvittavaa nestettä 23. Reaktoriastia 61 ja kuviossa 13 esitetty magneettiyksikkö 10 muodostavat yhdessä reaktoriyksikön 60, kuten kuviossa 15 on esitetty.

10

Kuviossa 15 on keksinnön mukainen reaktoriyksikkö 60, jossa olevaan reaktoriastiassa 61 on sijoitettu prosessissa tarvittava liuos 23, jossa on esimerkiksi kasvatusmediumi, näyte, puskuriliuos ja magneettipartikkeleita 22, kuten mikropartikkeleita. Sen jälkeen reaktoriastia 61 on liitetty magneettiyksikön 10 kiinnityslaippaan 33. Reaktoriin 60 voidaan tarpeen mukaan lisätä vielä aineita, kuten sopivia liuoksia ja magneettipartikkeleita tai poistaa nestettä reaktoriastiasta liitettyjen kanavien 62 kautta, joissa on venttiilit 63. Kanavat 62 tai vastaavat sisään tulot voivat sijaita reaktoriastian sivuilla tai päissä ja niiltä voi olla useampia ja eri puolilla reaktoriyksikköä. Kanavien 62 avulla voidaan kontrolloida esimerkiksi reaktoriyksikön 60 sisällä olevia kaasuja, pH arvoa ja suolapitoisuutta.

15

Sisääntulokanavien 62 kautta voidaan reaktoriyksikköön 60 tuoda myös lisää näytettä ja/tai viedä reaktoriyksikön 60 sisällä ollutta näytettä pois. Näissä sisään tuloissa voi olla sopia suodattimia, joilla sisään tuotava kaasu tai liuos voidaan myös pitää steriilinä. Kuviossa 15 magneettipartikkeleita 22 on kerääntynyt suojakalvon 21 pinnalle.

20

Kuviossa 16 on esitetty kuvion 15 reaktoriyksikkö 60 vaaka-asennossa. Jos reaktoriyksikköä 60 pidetään kyljellään tässä asennossa ja magneettiyksikön 10 magneettia 13 ja suojakalvoa 21 pyöritetään suhteessa magneettiyksikön 10 suojakuoreen, niin reaktoriyksikön 60 sisällä olevalle nesteelle 23 aikaansaadaan tehokas sekoitus. Tällöin myös magneettipartikkelit sekoittuvat nesteeseen. Reaktoriyksikön 60 sisällä olevan nestepinnan 25 korkeutta voidaan säätää ja optimoida käytettävään sovelluksen mukaan.

25

Reaktoriyksikössä 60 olevan nesteen 23 sekoituksen tehostamiseksi magneetin 13 suojakalvo 21 voidaan varustaa sopivilla siivekkeillä. Suojakalvon 21 ja siivekkeiden pyöriessä reaktoriastiassa 61 oleva neste 23 saadaan liikkumaan ja sekoittumaan tehokkaasti. Siivekkeiden asemesta suojakalvon 21 pintaan voidaan myös muotoilla eri

30

35

tavoin. Suojakalvossa 21 voi olla myös sopiva muotoilu sen kärkeosassa 64, joka tällöin kannattaa magneettiyksikköä sen ollessa vaakasuunnassa kyljellään.

Käytettävässä prosessissa magneettipartikkelit voivat olla valmiiksi kiinni magneetin 13 suojakalvossa 21 tai ne voidaan sopivasti prosessin aikana kiinnittää siihen.

Magneettipartikkelien keräys ja irrotus suojakalvolta 21 toteutetaan keksinnön mukaan ferromagneettisen holkin 12 avulla, jota siirrelään pituussuunnassa magneetin 13 päälle tai pois päältä. Esitetystä sovellutusmuodosta käytettävä magneetti 13 on poikittaissuuntaisesti magnetoitu magneetti. Tällöin olennaista on se, että

10 magneettipartikkelit voidaan kerätä reaktioyksikössä 60 suurelle pinnalle suojakalvon 21 ympärille.

Magneettipartikkelien ollessa kiinni suojakalvossa 21 on välineessä erittäin paljon aktiivista pintaa esimerkiksi proteiinien, solujen, DNA:n tai bakteerien keräämiseksi reaktioastiassa

15 61 oluvasta liuksesta 23. Sekoittamalla liuosta saadaan käsiteltävä liuos kulkemaan suojakalvossa 21 kiinni olevien magneettipartikkelien lomitse siten, että halutut komponentit tarttuvat magneettipartikkeleihin. Reaktioyksikössä 60 on myös mahdollista välillä vapauttaa magneettipartikkelit liukseen keksinnössä kuvatulla tavalla ja poimia magneettipartikkelit jälleen liuksesta suojakalvon 21 pinnalle.

20 Kuvio 17 esittää keksinnön mukaista olosuhdekaappia 70, johon voidaan sijoittaa useita reaktioyksiköitä 60 samanaikaisesti. Olosuhdekaappiin 70 liitetyn moottorin 71 ja käyttölaitteen 72 avulla voidaan samanaikaisesti pyörittää useiden reaktioyksiköiden 60 sisällä olevia magneetteja 13 ja suojakalvoja 21. Olosuhdekaapissa 70 voidaan säädellä

25 muun muassa sen lämpötilaa, magneettien ja niiden suojakalvojen pyöritysnopeutta, kaasujen vaihtoa reaktioyksiköiden sisällä, näytteenottoa reaktioyksiköistä sekä näytteen tai liuosten lisäyksiä reaktioyksiköihin.

Tällainen ratkaisu on erityisen hyödyllinen mikrobiologisessa laaduntarkkailussa, jolloin

30 reaktioyksiköissä 60 voidaan kasvattaa esimerkiksi patogeenisia bakteereja. Sopivan ajan kuluessa reaktioyksiköt 60 otetaan pois olosuhdekaapista 70. Tällöin magneettipartikkelit ovat magneettiyksikössä 10 kerättyinä suojakalvon 21 pinnalle. Reaktorin 60 magneettiyksikkö 10 irrotetaan reaktioastiasta 61, jonka jälkeen magneettipartikkelit voidaan esimerkiksi pestä ja konsentroida erillisissä astioissa. Irrotettuun reaktioastiasta 61

35 jää kaikki muu paitsi magneettipartikkelit. Laitteistolla voidaan käsitellä erittäin suuria nestetilavuuksia.

Kuviossa 18 on esitetty koeputki 26 (engl. tube) , jossa on supivaa nestettä 23, kuten pesunestettä. Reaktorista 60 irrotettu magneettiyksikkö 10 viedään koeputkeen 26 kuvion 19 esittämällä tavalla. Magneettipartikkelit 22 ovat lällöin vielä kerääntyneinä suojakalvon 21 pinnalle. Tässä tilanteessa liuksen 23 nestepinnan 25 on oltava suojakalvon 21

5 pinnalla olevien magneettipartikkelien 22 siluutumisalueen yläpuolella niin, että magneettipartikkelit 22 ovat nestepinnan 25 alapuolella.

Kuviossa 20 on esitetty tilanne, jossa magneettiyksikön 10 ferromagneettista holkkia 12 liikutetaan kuviossa alaspäin. Kuviossa 20 nähdään, että ferromagneettinen holkki 12 on jo

10 osittain magneetin 13 päällä. Ferromagneettisen holkin 12 siirtyminen magneetin 13 päälle aikaansaa magneettikentän poistumisen siltä kohdalta, jolloin osa magneettipartikkeleista 22a vapautuu suojakalvon 21 pinnalta yhäältä lähtien. Siinä kohdassa, jossa ferromagneettinen holkki 12 ei vielä ole magneetin 13 päällä magneettikerällä pitää toista nsaa magneettipartikkeleita 22b edelleen kiinni suojakalvon 21 pinnalla.

15 Kuviossa 21 ferromagneettinen holkki 12 on siirtynyt jo kokonaan magneetin 13 päälle. Tällöin ferromagneettinen holkki 12 on aikaansaanut magneettikentän poistumisen kokonaan, jolloin kaikki magneettipartikkelit 22 ovat vapautuneet suojakalvon 21 pinnalta liukseen 23.

20 Kuviossa 22 magneettiyksikkö 10 on poistettu koeputkesta 26, jolloin magneettipartikkelit 22 ja niihin siloutuneet komponentit, kuten esimerkiksi bakteerit on saatu konsentroitua reaktioyksikön 60 ulkopuoliseen koeputkeen 26. Samaa magneettiyksikköä 10 käyttäen voidaan nyt jatkaa näylleen prosessoinia pienemmissä tilavuuksissa siten, että

25 ferromagneettisella holkillä 12 rajoitetaan magneettipartikkelien 22 sitomisalue aivan suojakalvon 21 kärkiosaan. Koeputkesta 26 voidaan kerätä magneettipartikkelit 22 seuraaviin koeputkiin ja esimerkiksi pestä niitä tarvittava määrä.

On myös mahdollista eristää reaktioyksiköstä 60 kerättyjen bakteerien DNA, RNA, proteiini

30 tai pinta-antigeeni nille erikseen tarkoitetuilla reagensseilla. Bakteerit on yleensä hajotettava erilaisilla laitteilla ja/tai reagensseilla ennen jatkoanalyysyä. Hajotuksen jälkeen voidaan lisätä seuraavat, sitomisominaisuuksiltaan erilaiset, magneettipartikkelit edellä aikaansaatuun bakteerilysaattiin. Uuden ominaisuuden sisältävien

35 magneettipartikkelien avulla kerätään esimerkiksi haluttu bakteerin proteiini, antigeeni, DNA , rRNA, RNA tai mRNA bakteerilysaatista. Reaktioyksikössä 60 bakteerien keräykseen tarkoitetut magneettipartikkelit 22 on voitu poistaa ennen kuin uusia ominaisuuksia sisältäviä magneettipartikkeleita on otettu käyttöön prosessissa.

Keksinnössä kuvattua menetelmää käyttäen voidaan edellä mainittuja komponentteja eristää, pestä ja vapauttaa varsinaista analyysia varten. Analyysimetodeina voi olla esimerkiksi PCR-amplifikaatio tai ELISA-määritys. Kuvatussa kaltaisessa reaktoriastias-  
 5 voidaan kasvattaa sekä aerobisia että anaerobisia mikro-organismeja.

Kuviossa 23 on esitelty magneettiyksikkö 10, johon kuuluu poikkisuuntaisesti magnetoitu magneetti 13, ferromagneettinen holkki 12 ja jonka suojakalvo 21, jonka ulkopinnassa on harjanteita 29. Harjanteiden 29 väliin jää syvennyksiä, joihin mikropartikkelit 22  
 10 kerääntyvät, ja joiden avulla saadaan varmistettua sekä suuren mikropartikkelimäärän luotettava kerääminen isolle pinnalle että niiden siirtäminen astiasta toiseen.

Kuviossa 24 on esitetty kuvion 23 magneettiyksikkö 10 asennossa, jossa magneetti 13 on työnnetty kokonaan ulos ferromagneettisesta holkista 12. Tällöin poikittain magnetoitu  
 15 magneetti 13 kerää mikropartikkeleita 22 suojakalvolle 21 koko magneetin pituudella. Magneettia 13 ulos työntäessä suojakalvo 21 venyy samalla niin, että harjanteiden 29 väliin muodostuu suuret syvennykset tai taskut. Mikropartikkelit 22 jäävät näihin taskuihin niin, että ne on helppo pitää paikoillaan magneettiyksikköä 10 nostettaessa. Magnettiyksikön 10 liikkeen aiheuttamat nestevirtaukset ja pinnan läpäisyn aiheuttama  
 20 nestejännityksen häiritsevä vaikutus eivät irrota mikropartikkeleita 22 taskuista.

Kuviossa 25 on esitetty tilanne, jossa magneetti 13 on työntyneenä kokonaan ulos ferromagneettisesta holkista 12 ja samalla myös ferromagneettinen holkki 12 työnnetään kokonaan ulos. Tällöin magneetin 13 päälle työnnetty ferromagneettinen holkki 12 kumoaa  
 25 magneetin 13 magneettivoiman ja mikropartikkelit 22 irtuvat suojakalvoesta ja siirtyvät takaisin nesteeseen.

Kuviossa 26 on taas esitelty tilanne, jossa vain ferromagneettinen holkki 12 on työntyneenä kokonaan ulos. Tällöinkään ei magneetilla 13 ole magneettivoimaa, joten  
 30 mikropartikkelit 22 eivät keräänny suojakalvon 21 pinnalle. Tätä kuvion 26 esittämää vaihetta voidaan sen sijaan käyttää vuorotellen kuvion 23 vaiheen kanssa, jolloin nesteeseen aikaansaadaan tehokkaasti sekoittava pumppausvaikutus. Luonnollisesti myös kuvioden 24 ja 25 vaihetta voidaan käyttää vuorotellen eli magneetin 13 ollessa työntyneenä kokonaan ulos liikutellaan vain ferromagneettista holkkia 12 edestakaisin.  
 35 Myös näin saadaan sekoittava pumppausvaikutus nesteeseen.

Kuviossa 27 on esitetty magneettiyksikkö 10, jossa on pitkittäin magnetoitu magneetti 13, ferromagneettinen holkki 12 ja suojakalvo 21, jonka päässä on tasku 42 mikropartikkeleita 22 varten. Tällaisella rakenteella saadaan myös kerättyä suuri määrä mikropartikkeleita 22, jotka eivät helposti irtoa suojakalvon 21 pinnasta siirron aikana.

5

Kuviossa 28 on esitetty useita rinnakkaisia magneettiyksiköitä 10, joilla on yhteinen levymäinen suojakalvo 21. Suojakalvo 21 on venyvää materiaalia, jolloin samaa kalvoa voidaan käyttää yhteisenä viereisten magneettiyksiköitä 10 varten. Kalvo otetaan edullisimmin rullata, jolloin se on myös helposti vaihdettavissa.

10

Kuviossa 29 on esitetty kaksi rinnakkaista magneettiyksikköä 10a ja 10b, joilla on yhteinen suojakalvo 21. Kuvion 29 esimerkklaitteessa magneettiyksiköiden 10a ja 10b toiminta on eri vaiheissa. Molempien magneettiyksiköiden 10a ja 10b ferrometalliholkit 12a ja 12b ovat painuneina suojakalvoa 21 vasten siten, että suojakalvo 21 painuu mikrolevyn kaivojen reunoja vasten sulkien ja tiivistäen kaivot kalvolla. Magneettiyksikön 10b magneetti on lisäksi työnnetty alaspäin kohti mikrolevyn kaivoa niin, että suojakalvo 21 ja sen sisällä oleva magneetti 13b pää ovat nesteessä 23. Tällöin nesteessä 23 olevat mikropartikkelit 22 kerääntyvät polkittain magnetoidun magneetin 13b päähän suojakalvon 21 pinnalle.

15

Kuviossa 30 on esitelty sovellusmuoto, jossa magneettiyksiköillä 10a ja 10b ei ole erillisiä ferrometalliholkkeja. Ne on korvattu ferrometallilevyllä 12, joka on muotoiltu siten, että mikrolevyn kaivojen kohdalla siinä on alaspäin suunnatut ulukkeet. Magneetit 13a ja 13b on sijoitettu ferrometallilevyn 12 ulokkeiden kohdalla oleviin aukkoihin. Kuviossa 30 magneettiyksiköiden 10a ja 10b magneetit 13a ja 13b ovat samalla tavoin eri vaiheissa kuin kuviossa 29.

25

Kuviossa 31 on esitetty sovellusmuoto, jossa magneettiyksiköillä 10a ja 10b on myös yhteinen holkit korvaava ferrometallilevy 12, joka lässä lapauksessa on suora levy. Magneetit 13a ja 13b on sijoitettu ferrometallilevyn 12 aukkoihin. Tässäkin kuviossa magneettiyksiköiden 10a ja 10b magneetit 13a ja 13b ovat eri vaiheissa. Kuvion 29 ratkaisusta poiketen suojakalvo 21 on painettu mikrolevyn kaivojen reunoja vasten magneettien 13a ja 13b avulla eikä ferrometalliholkkien avulla. Magneettiyksikön 10a magneetti 13a on tiivistysasennossa kun taas toisen magneettiyksikön 10b magneetti 13b on mikropartikkelien 22 keräysasennossa.

30

35

Kuviossa 32 on esitetty monikanavasiirtolaite 40, jossa magneettiyksiköt 10 on sijoitettu ympyrän muotoon. Tällainen laite on edullinen silloin kun mikropartikkeleita on kerättävä

suuresta tilavuudesta. Magneettityksiköillä 10 voi olla julkaisella erillinen suojakalvo, mutta toisen sovellutusmuodon mukaan kaikkien magneettityksiköiden 10 kohdalla on yksi yleinen suojakalvo.

- 5 Kuviossa 33 on esitetty sovellutusmuoto, jossa astiassa olevat magneettipartikkelit haetaan magneettityksiköllä, jossa on elastomeerisistä materiaaleista (kuten esimerkiksi silikonikumi) valmistettu suojakalvo. Magneettiväliseen sisäliä on poikittain magnetoitu magneetti, jota voidaan liikuttaa ferromagneettisessa holkissa. Tällainen magneettiväline viedään astiaan ja magneettipartikkelit kerääntyvät suojakalvon pinnalla sille kohdalle,
- 10 jossa magneetti on ferromagneettisen holkin ulkopuolella. Kuvan tapauksessa suojakalvossa on myös muotoiluja, joiden lomiin magneettipartikkelit voivat hyvin asettua. Elastomeeristä suojakalvoa on venytetty magneetin avulla, jolloin suojakalvossa olevien muotoilujen välimatka on myös kasvanut ja keräyspintaa on tullut lisää. Magneettiväliseen kerätyt magneettipartikkelit voidaan nyt siirtää pois liuoksesta
- 15 siirtämällä magneettiväline pois astiasta. Magneettiväline viedään filterilliseen astiaan, jossa on sopivaa nestettä. Filteri voi olla valmistettu erilaisista materiaaleista ja se voi olla eri paksuinen sekä huokoisuusaste saattaa vaihdella paljon erilaisten tarpeiden mukaan. Filterin tilalla voi olla myös membraani tai sitten erityinen venttiiliratkaisu. Filterillisessä astiassa magneettiväliseen magneetti viedään ylöspäin ferromagneettisen holkin sisälle,
- 20 jolloin magneettikenttä ei enää ole suojakalvon ympärillä ja magneettipartikkelit voidaan vapauttaa suojakalvon pinnalta. Ferromagneettisella holkilla venytetään suojakalvoa ja poistetaan venytystä sopivasti yhdistellen ja näin aikaansaadaan liuoksen sisällä virtauksia. Keksinnössä kuvatulla menetelmällä voidaan sekä sekoittaa tehokkaasti liuosta että edesauttaa magneettipartikkelien irtoamista suojakalvon pinnalta. Magneettipartikkelit
- 25 kerätään sopivasti filterillisestä astiasta tuomalla magneetti ulos ferromagneettisen holkin sisältä ja venyttämällä sopivasti elastomeeristä suojakalvoa. Näitä vaiheita eli ferromagneettisen holkin avulla aikaansaattua suojakalvon edestakaisista venytystä ja magneettipartikkelien keräystä magneetin avulla voidaan myös sopivasti yhdistellä jos halutaan saada aikaiseksi erittäin tehokkaita sekoitusominaisuuksia. Kuvassa esitetään
- 30 magneettivälineellä keräytyneiden magneettipartikkelien siirtäminen pois filterillisestä astiasta ja liuoksen poistaminen astiasta. Magneettivälinettä ei välttämättä tarvitse siirtää pois astiasta liuoksen poistamisen ajaksi. Seuraavaksi filterilliseen astiaan lisätään uusi liuos ja magneettiväline tuodaan takaisin filterilliseen astiaan. Jos astiassa on sopivasti tilaa niin magneettivälinettä ei tarvitse poistaa astiasta seuraavaa liuosta lisättäessä vaan
- 35 magneettiväline voi olla sopivasti kohdistettuna esimerkiksi yhdelle astian seinämälle liuoksen lisäyksen ajaksi. Näitä filterillisen astian kanssa suoritettavia liuosten vaihtoja ja magneettipartikkelien keräyksiä voidaan suorittaa haluttu määrä peräkkäin. Näin saadulla



ratkaisulla voidaan säästää kertakäyttötavaroiden määrää merkittävästi. Magneettivälineestä magneettipartikkelit vapautetaan edellä kuvatulla tavalla ja sekoitetaan ferromagneettisen holkin avulla suoritettavalla venytyksellä sekä löysäyksellä. Lopuksi, kun tarvittava määrä sekoituksia on tehty, magneetti siirretään ferromagneettisen holkin ulkopuolelle ja kerätään magneettipartikkelit suojakalvon päälle. Nyt magneettiväline ja magneettipartikkelit voidaan siirtää seuraavaan astiaan, jonne magneettipartikkelit vapautetaan edellä kuvatulla tavalla. Tästä astiasta prosessia voidaan jatkaa tarpeen mukaan ja lopuksi magneettipartikkelit voidaan poistaa astiasta kokonaan. Toinen tapa edetä filterillisen astian liuoslisäyksen jälkeen on vapauttaa magneettipartikkelit filterilliseen astiaan, jossa niitä voidaan pestä lisäämällä sopivia liuoksia tarpeen mukaan. Lopuksi magneettipartikkeleihin sidotut komponentit voidaan vapauttaa ja kerätä filterillisen astian alle laitettavaan erilliseen astiaan. Kaikki filterillisellä astialla suoritettavat liuosten poistot voidaan suorittaa joko vakuunna tai sentrifuugia käyttämällä. Filterilliseen astiaan tehtävät liuosten lisäykset voidaan tehdä tavallisilla nesteannostimilla kuten manuaalisilla pipeteilla tai dispensereillä. Automaattiset neteenkäsittelylaitteistot soveltuvat myös käytettäväksi menetelmässä.

Kuviossa 34 magneettipartikkelit ovat filterillisessä astiassa, jossa voidaan toistaa liuosten poistamista ja seuraavan liuoksen lisääminen useita kertoja. Magneettipartikkeloita voi olla eri määriä, jolloin niiden sitomiskapasiteettia voidaan tarvittaessa merkittävästi suurentaa tai pienentää. Erityisen tärkeä sovellus on suurivolyymisen näytteen ajaminen magneettipartikkelikerroksen läpi, jolloin haluttu näyte kiinnittyy magneettipartikkelien pinnalle. Magneettipartikkelien pinnalla voi olla kiinnitettynä spesifisiä ligandeja kuten esimerkiksi vasta-aineita, peptidejä tai nukleotidejä. Näytteessä voi olla esimerkiksi bakteereja, viruksia, soluja, nukleinihappoa, proteiinia tai peptidiä, jota halutaan kerätä magneettipartikkelien pinnalle. Erityisen soveltuva tämä tapa on silloin, kun suurivolyymisessä näytteessä on hyvin vähän kerättävää komponenttia (esim. bakteereja).

Näytteen käsittelyn ja mahdollisten pesujen jälkeen magneettipartikkelit kerätään filteriltä magneettivälineen avulla. Magneettivälineessä voi olla edullisesti poikittain magnetoitu magneetti ja sopivasti muotoiltu suojakalvo, jotka yhdessä mahdollistavat suurienkin magneettipartikkelimassojen keräämisen filteriltä. Keksinnössä kuvatulla elastomeerisen suojakalvomateriaalin toistuvalla venytyksellä aikaansaadulla liuoksen ja magneettipartikkelien sekoittamisella saadaan filterille kerääntyneet magneettipartikkelit hyvin irroitettua filteriltä. Magneettivälineellä voidaan magneettipartikkelit edelleen siirtää toisiin astioihin mahdollisia jatkopesuja, inkubointeja, eluaatiota ja/tai detektointia varten.

Kuviossa 35 esitetään useamman kuin yhden magneettivälilinen ja filterillisten astioiden käyttämistä magneettipartikkelien käsittelyyn (sekoitus, keräys, vapautus, siirtäminen), astioiden sulkemiseen ja avaamiseen sekä liuosten käsittelyä (liuosten poistaminen ja lisääminen). Magneettiväline ja filterilliset astiat voivat olla esimerkiksi järjestettynä 8 tai  
 5 12 yksikön riviin. Hyvin soveltuva toteutusmuoto voi myös olla 24, 48, 96 ja 384 levyä, jolloin näytteiden käsittely nopeutuu merkittävästi ja tällainen ratkaisu soveltuu hyvin esimerkiksi automaattiseen ratkaisuun.

Kuviossa 35 esitetään magneettivälilinen avulla filterillisen astian sulkeminen viemällä  
 10 magneettiväline ja magneettipartikkelit astiaan. Magneettivälilinen suojakalvolla voi olla erityinen muotoilu edesauttamaan liuoksen liuvyitä. Yksinkertaisin tapa tiivistää liitos on magneettivälilinen painaminen voimakkaasti filterillistä astiaa vasten. Suojakalvon elastomeerisen materiaalin venyttämismuinaisuuksia voidaan myös käyttää hyväksi astian tiiviin sulkemisen ja helpon avaamisen toteuttamisessa. Liuoksia voidaan tarpeen mukaan  
 15 vaihtaa useampia kertoja yksinkertaisesti imemällä edellinen liuos filterin läpi pois ennen uuden liuoksen lisäämistä astiaan. Magneettipartikkelit voidaan täksi ajaksi kerätä magneettivälineeseen kiinni.

Erityisen soveltuva tällainen magneettipartikkelien käsittelyratkaisu on automaattisessa  
 20 laitteistossa, jossa on nesteänkäsittelyyn tarvittavat annostimet, filterillisten astioiden (esim. 96 ja 384 levyformaatti) vakuumityöasema ja monimagneettinen (esimerkiksi 8, 12 tai 96 magneettinen) magneettityökalu.

Kuviossa 36 magneettipartikkeleita sisältävä astia viedään astian ulkopuolisen magneetin  
 25 viereen, jolloin magneettipartikkelit kerääntyvät pellettiksi magneetin läheisyyteen astian sisäseinämälle. Nyt on mahdollista imeä neste pois astiasta niin, että magneettipartikkelit jäävät astian seinämälle. Astiaan voidaan lisätä seuraava liuos ja magneettikenttä voidaan poistaa liikuttamalla ferromagneettinen holkki magneetin päälle. Magneettikentän poistuttua voidaan magneettipartikkelit saattaa liuokseen homogeeniseen tilaan  
 30 sekoittamalla liuosta eri tavoin.

Yhden tavan mukaan (ylin kaaviokuva) magneettipartikkelpelletti voidaan saada  
 homogeenisoitua pellettistä liuokseen esimerkiksi pipetin kärjen avulla liikuttamalla liuosta  
 edestakaisin pelletin läheisyydessä. Tätä ennen magneetin ympärille on tuotu  
 35 ferromagneettinen holkki, joka poistaa magneetin magneettikentän ja näin magneettipartikkelit ovat saatettavissa sekoittamalla jälleen homogeeniseksi liuokseen. Haluttaessa vaihtaa liuos toiseen toimitaan kuten edellä eli poistetaan ferromagneettinen

holkki magnootin ympäriltä, jolloin magneettikentä vetää magneettipartikkelit pelletiksi. Tämän jälkeen imetään liuos pois ja lisätään seuraava liuos. Näitä välivaiheita voidaan toistaa tarvittava määrä riippuen sovelluksesta.

- 5 Toinen tapa (keskimmäinen kaaviokuva) saada magneettipartikkelit homogenisoitua liuokseen on tuoda keksinnössä kuvattu magneettiväline astiaan ja toistuvasti venyttää ja löysätä elastomeeristä suojakalvoa niin, ettei magneetti ole ferromagneettisen holkin ulkopuolella. Ennen tätä astian ulkopuolisen magneetin ympärille on viety ferromagneettinen holkki, jolloin magneettikenttä on eliminoitu ulkopuolisesta magneetista.
- 10 Suojakalvon venyttely suoritetaan ferromagneettisen holkin avulla. Näin aikaansadaan tehokas sekoitus liuokseen ja magneettipartikkelipelletti helposti homogenisoitua takaisin liuokseen. Samalla kun kiuosta sekoitetaan magneettivälineellä voidaan astia sulkea ja näin estää osimmoiksi liuoksen haihtumista. Erityisen edullinen tämä suoritusmuoto on silloin, kun halutaan suorittaa pitkiä inkubointeja ja/tai käyttää korkeita lämpötiloja, jolloin
- 15 haihtumisesta tulee suuri ongelma. Magneettivälineellä voidaan kerätä magneettipartikkelit liikuttamalla magneetti ulos ferromagneettisen holkin sisältä. Magneettipartikkelit kerääntyvät suojakalvon ulkopuolelle ja on siirrettävissä magneettivälineen mukana pois astiasta. Astiasta voidaan imeä liuos pois ja lisätä seuraava liuos ja magneettipartikkelit voidaan tuoda ja vapauttaa takaisin samaan astiaan. Toinen tapa on siirtää
- 20 magneettipartikkelit toiseen astiaan, minne magneettipartikkelit voidaan tarvittaessa vapauttaa.

- Kolmas tapa (alin kaaviokuva) saada magneettipartikkelit sekoitettua homogeeniseksi liuokseen on tuoda erityinen sekoitusväline astiaan. Sekoitusvälineen perusperiaate
- 25 sekoittamiseksi suhteen on sama kuin edellisessä tapauksessa eli venyttämällä elastomeeristä suojakalvoa edestakaisin saadaan liuokseen luotua virtauksia. Tässä tapauksessa sekoitusvälineessä ei ole magneettia vaan pelkästään tanko suojakalvon sisällä, jota liikuttamalla voidaan elastomeeristä valmistettua suojakalvoa venyttää ja löysätä tarpeen mukaan. Tässäkin tapauksessa astian ulkopuolisen magneetin tulee olla
  - 30 ferromagneettisen holkin sisällä eli astian ulkopuolinen magneettikenttä poistettu. Haluttaessa kerätä magneettipartikkelit pelletiksi poistetaan ferromagneettinen holkki astian ulkopuolisen magneetin ympäriltä, jolloin magneettipartikkelit muodostavat pelletti astian seisäselämälle. On mahdollista että, sekoitusväline siirretään pois astiasta tai se on astiassa silloinkin kun liuos imetään astiasta pois ja seuraava liuos lisätään astiaan.
  - 35
- Kuviossa 37 on esitetty filtoirillisen astiaston (esim. 96-formaatti) ja magneettipartikkelien käsittelyä magneettivälineen sekä sekoitusvälineen kanssa. Filteriilevyn alapuolella

- erillisten kuoppien / astioiden väleissä on magneetti, jonka ympärillä olevaa ferromagneettista holkkia voidaan liikutella suhteessa magneettiin. Haluttaessa magneettikenttä pois magneetin ympäriltä liikutetaan ferromagneettinen holkki magneetin päälle. Eräässä keksinnön sovellusmuodossa sekä magneettia että ferromagneettista
- 5 holkkia voidaan liikutella erikseen. Tällöin magneettipartikkelien kerääntymiskohtaa ja kerääntymisalueen laajuutta voidaan kontrolloida yksinkertaisesti magneetin ja ferromagneettisen holkin avulla. Kuvassa on esitetty suoritusmuoto, jossa magneetti ei liiku vaan ainoastaan ferromagneettinen holkki liikkuu suhteessa magneettiin. Aluksi magneettipartikkelit ovat homogeenisesti liuoksessa ja magneetti on ferromagneettisen
- 10 holkin sisällä. Ferromagneettinen holkki liikutetaan pois magneetin ympäriltä, jolloin magneetin magneettikenttä kerää magneettipartikkelit astian sisäseinämälle pelletiksi. Liuos voidaan imeä filteripohjan läpi pois esimerkiksi vakuumin avulla. Seuraava liuos voidaan lisätä astiaan ja ferromagneettinen holkki liikutetaan jälleen magneetin päälle.
- 15 Ensimmäisessä vaihtoehdossa astiaan tuodaan erityinen siirtoväline, jossa on elastomeerinen suojakalvo ja suojakalvon sisällä ylös- ja alaspäin liikutettava tanko. Tankoa liikuttamalla alaspäin elastomeerinen suojakalvo venyy ja liikutettaessa tankoa ylöspäin suojakalvon jännitys palautuu takaisin. Tällaisella sekoituksella saadaan aikaan nestevirtauksia ja menetelmä soveltuu erinomaisen hyvin partikkelien sekoitukseen
- 20 plenissä tilavuuksissa (esim. 96-levyt). Magneettiväline itse ei liiku tämän tapahtuman aikana vaan ainoastaan tanko suojakalvon sisällä. Tässä tapauksessa magneettivälineinä oleva suojakalvo voivat sulkea astian sekoituksen ajaksi. Sekoitusvälineen sekoittaessa ulkopuolinen magneetti on katettu kokonaan ferromagneettisella holkillä. Ferromagneettisen holkin siirtämisellä pois magneetin ympäriltä voidaan kerätä
- 25 magneettipartikkelit pelletiksi astian sisäseinämään ja liuos imeä pois filterin läpi. Tämän jälkeen voidaan seuraava liuos lisätä astiaan.
- Toisessa vaihtoehdossa astiaan tuodaan magneettiväline, jonka avulla sekoitus suoritetaan edellisessä vaihtoehdossa kuvatulla tavalla siten, että magneetti on koko ajan
- 30 ferromagneettisen holkin sisäpuolella. Ferromagneettinen holkki toimii elastomeerisen suojakalvon venyttäjänä ja löysääjänä. Tässäkin tapauksessa magneettiväline ja suojakalvo voivat sulkea astian sekoituksen ja muiden tapahtumien ajaksi. Kerätessä magneettipartikkelit magneettivälineen suojakalvon ympärille tuodaan magneetti ferromagneettisen holkin sisäältä ulos ja magneetilla venytetään suojakalvoa.
- 35 Magneettipartikkelit voidaan siirtää pois astiasta viemällä koko magneettiväline pois astiasta. Liuos voidaan imeä pois filterin läpi pois ja seuraava liuos voidaan lisätä astiaan. Magneettivälineellä voidaan tuoda magneettipartikkelit takaisin samaan astiaan ja suorittaa

odolla kuvattuja sekoituksia ja keräyksiä tarpeen mukaan. Magneetiliparutikkelit voidaan siirtää myös toiseen astiaan jatkokäsittelyjä varten

5 Kuvio 38 on identtinen kuvion 37 kanssa paitsi, että kuvassa 6 astia on tavallinen kuoppa (esim. 96-mikroitiitterilevyn kuoppa) ja liuosten poistaminen kuopasta tapahtuu imemällä astian yläpuolelta esimerkiksi pipetillä tai vesi-imulla.

10 Kuvion 39 vasemmassa yläkulmassa olevassa kuviossa 39a esitetään universaalia sekoitusvälinettä, jossa on elastomeerinen suojakalvo. Kuvan tapauksessa suojakalvossa on erilaisia muotoiluja. Suojakalvon sisällä on ylös- ja alaspäin liikuteltava tanko. Tanko voi olla eri materiaaleista (esimerkiksi muovi tai metalli) valmistettu. Venyteltäessä suojakalvoa painamalla tankoa alaspäin ja löysäämällä venytystä liikuttamalla tankoa ylöspäin saadaan aikaan aikaiseksi liuoksessa virtauksia. Virtauksia voidaan vielä voimistaa käyttäessä suojakalvon pinnalla erilaisia muotoiluja ja valitsemalla astia sopivasti.

15 Sekoitusvälineelle on myös ominaista se, että sillä voidaan sulkea astian aukko niin että haihtuminen vähentyy ja roiskeiden riski minimoituu. Astian sulkeminen voidaan tehdä sekoituksen aikana koska sekoitusvälineessä ainoastaan sisällä oleva tanko liikkuu venyttäen elastomeeristä valmistettua suojakalvoa. Erityisen tehokas tällainen ratkaisu on automaattisissa laitteissa ja pienten tilavuuksien sekoituksissa.

20 Oikeassa yläkulmassa olevassa kuvassa esitetään sovellus, jossa suojakalvo on yhtenäinen vierekkäisille sekoitusvälineille ja astioille. Erityisen edullinen suoritusmuoto on esimerkiksi yksi yhtenäinen suojakalvo, esimerkiksi silikonikuminen levy, mikroitiitterilevyn päällä (90-kuoppaa). Suojakalvon materiaali voi olla myös eri elastomeerisestä materialista valmistettu. Tässäkin ratkaisussa kuoppien sulkeminen pystytään järjestämään samanaikaisesti kun kuopissa olevia liuoksia sekoitetaan. Tällaisella suoritusmuodolla vain osaa kuopasta voidaan sekoittaa, ja toisten kuoppien voidaan antaa olla sekoittamatta.

25 Erityisen edullinen keksinnön suoritusmuoto on korkeassa lämpötilassa suoritettavat reaktiot ja inkubaatiot, jolloin haihtuminen on suurta. Sulkemalla astiat saadaan

30 haihtumista vähennettyä merkittävästi.

Alimmat kuvat esittävät erilaisia vaihtoehtoja suojakalvon muotoilulle. Sopiva muotoilu riippuu myös käytettävän astian sisämitoista, muotoiluista sekä käytettävästä liuosmäärästä.

35

Kuviossa 40 esitetään yksi mahdollinen sovellus ulkopuolisen magneetin ja ferromagneettisen holkin käytölle esimerkiksi 96-kuoppalevyjen kanssa. Magneetin alla voi

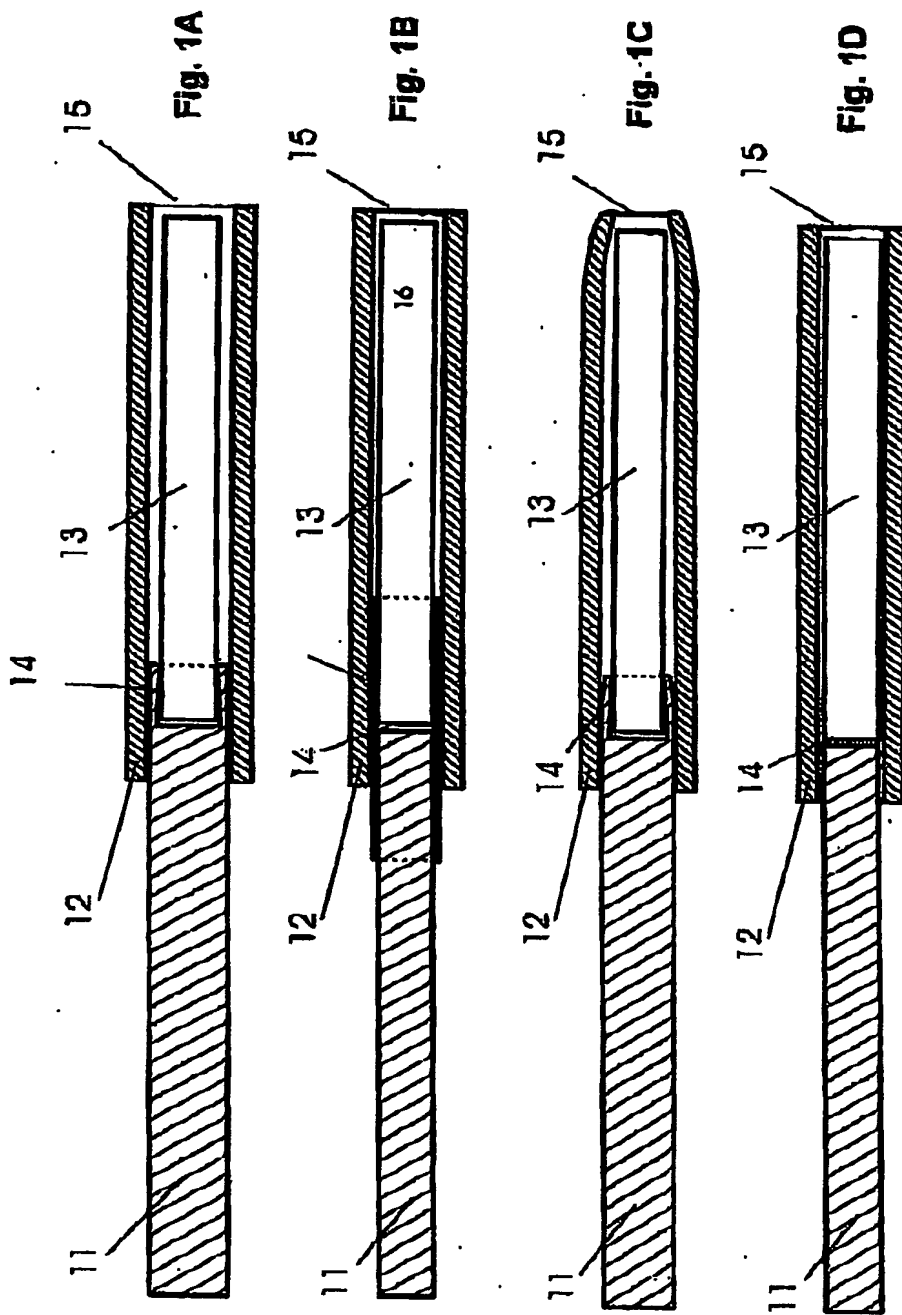
- olla jousitus ja painamalla levyä alaspäin levy samalla painaa magneetin ferromagneettisen holkin sisälle. Kun magneetti on ferromagneettisen holkin sisällä ulkopuolla ei ole magneettikenttää ja magneettipartikkelien muodostama pelletti voidaan homogenisoida keksinnössä kuvatuilla eri tavoilla tiuokseen. Levyn painaminen voidaan
- 5 suorittaa keksinnössä kuvatun magneettivälineen tai sekoitusvälineen toimesta. Keksinnössä kuvatut sekoitukset ja astian sulkeminen voidaan suorittaa tällaisen jousitusratkaisun kanssa tehokkaasti. Painamalla esimerkiksi magneettivälineellä astiaa tai levyä alaspäin suljetaan astian/astioiden aukot ja samalla ulkopuolinen magneetti painetaan ferromagneettisen holkin sisään. Kun magneettivälineellä pidetään astiaa/levyä
- 10 alhaalla voidaan keksinnössä kuvatut sekoitukset ja magneettipartikkelien keräykset suorittaa tehokkaasti. Samalla astia pysyy varmasti suljettuna. Astiat voivat olla myös filteripohjaisia ja keksinnössä kuvatut edut filteripohjallisten astioiden käytöstä tulevat tässäkin ratkaisussa selvästi esille.
- 15 Magnettivälineen, vaikka siinä ei olisikaan elastomeeristä suojakaivoa, siirtäminen ja sen käyttäminen filterillisten astioiden sekä ulkopuolisen magneetin kanssa keksinnössä kuvatuilla eri tavoilla kuuluu patentin keksinnön piiriin.
- Yllä mainitut keksinnön suoritusmuodot ovat vain osimorkkejä keksinnön mukaisen idean
- 20 toteuttamisesta. Alan ammattimiehelle on selvää, että keksinnön erilaiset suoritusmuodot voivat vaihdella jäljempänä esitettävien patenttivaatimusten puitteissa.

## VIITENUMEROLUETTELO

- 10 magneettiyksikkö
- 11 tanko
- 5 12 ferromagneettinen pulki tai holkki
- 13 magneetti
- 14 liitoskohta
- 15 suuaukko
- 16 liitosputki
- 10 17 magneettikenttää kuvaavat viivat
- 18 magneettikentän keräysalue
- 19 magneettikenttä
- 20 keräyspinta
- 21 suojakalvo
- 15 22 mikropartikkelit
- 23 liuos
- 24 magneetin napa
- 25 nestepinta
- 26 astia
- 20 27 käämi
- 28 pyöritys akseli
- 29 suojakalvon harjanne
- 30 mikropartikkelien siirtolaite
- 31 runkoputki
- 25 32 soviteholkki
- 33 kiinnityslappi
- 34 putkensiirtoyksikkö
- 35 putkensiirtotappi
- 36 pitkänomainen aukko
- 30 37 magneetin siirtoluisli
- 38 magneetin siirtotappi
- 39 pitkänomainen aukko
- 40 mikropartikkelien monikanavasiirtolaite
- 41 magneettiyksikköryhmä
- 35 42 tasku
- 43 yhdystanko
- 44 palautusjouso

- 45 välitanko
- 46 "liipasin"
- 50 automaatti
- 51 matriisi
- 5 52 kontrolliyksikkö
- 53 nuoli
- 54 nuoli
- 55 näytelevy
- 56 matriisi (toisen kerran)
- 10 57 taso
- 58 (toinen) kontrolliyksikkö
- 60 reaktoryksikkö
- 61 reaktioastia
- 62 kanava
- 15 63 venttiili
- 64 karkiosa
- 70 olosuhdekaappi
- 71 moottori
- 72 käyttölaite
- 20





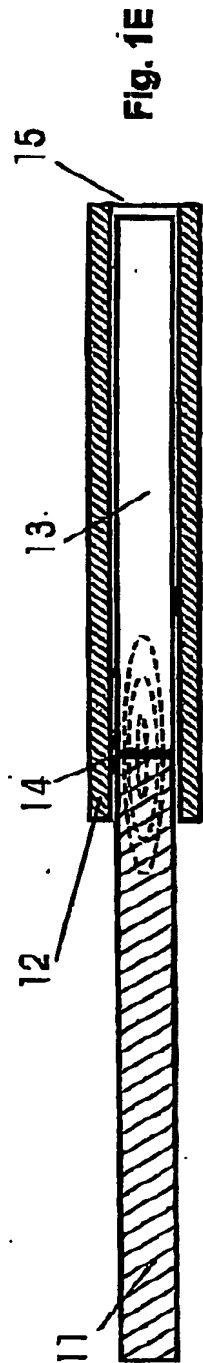


Fig. 1E

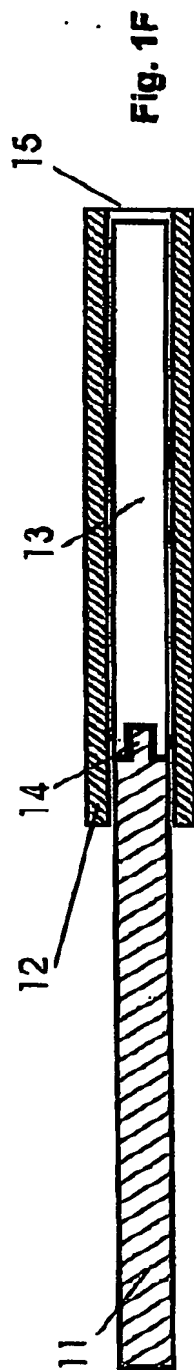


Fig. 1F

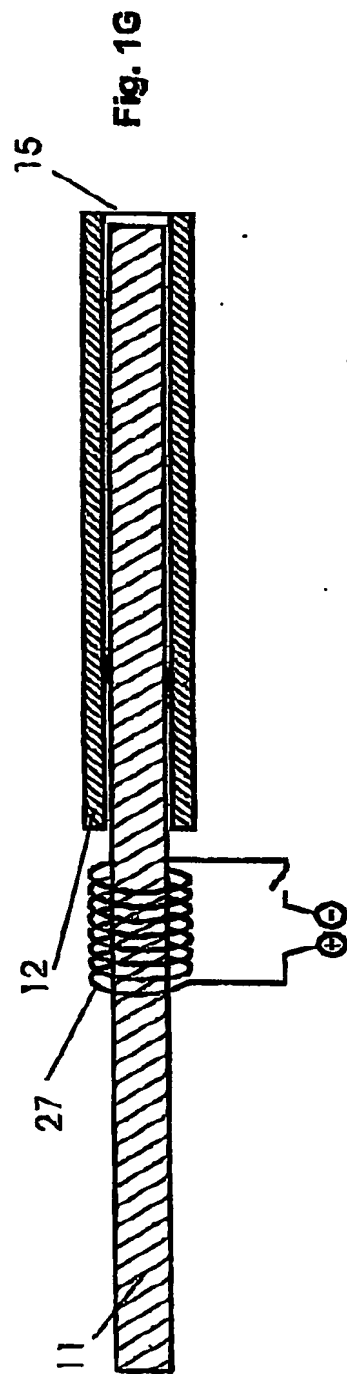
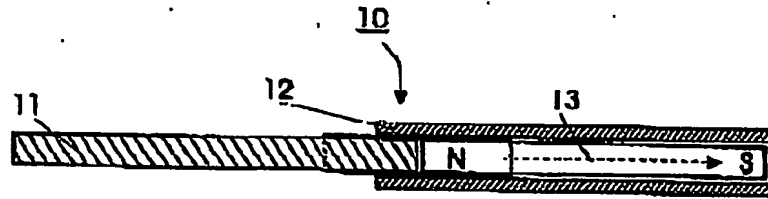
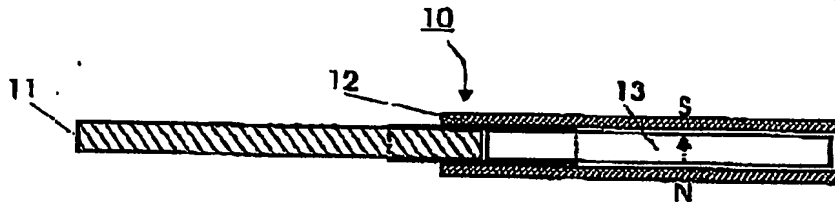


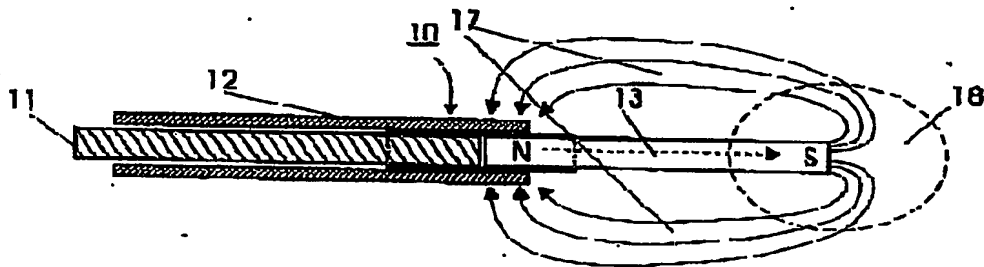
Fig. 1G



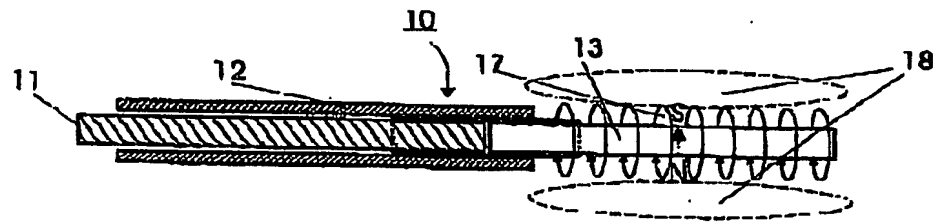
**Fig. 2A**



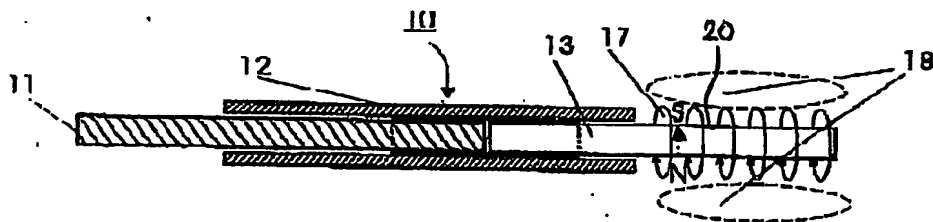
**Fig. 2B**



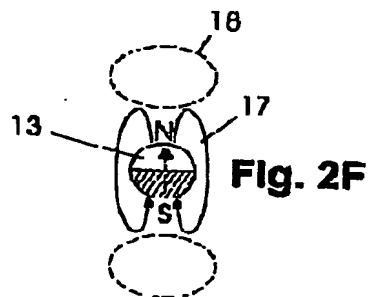
**Fig. 2C**



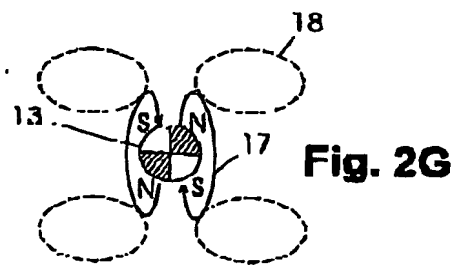
**Fig. 2D**



**Fig. 2E**



**Fig. 2F**



**Fig. 2G**

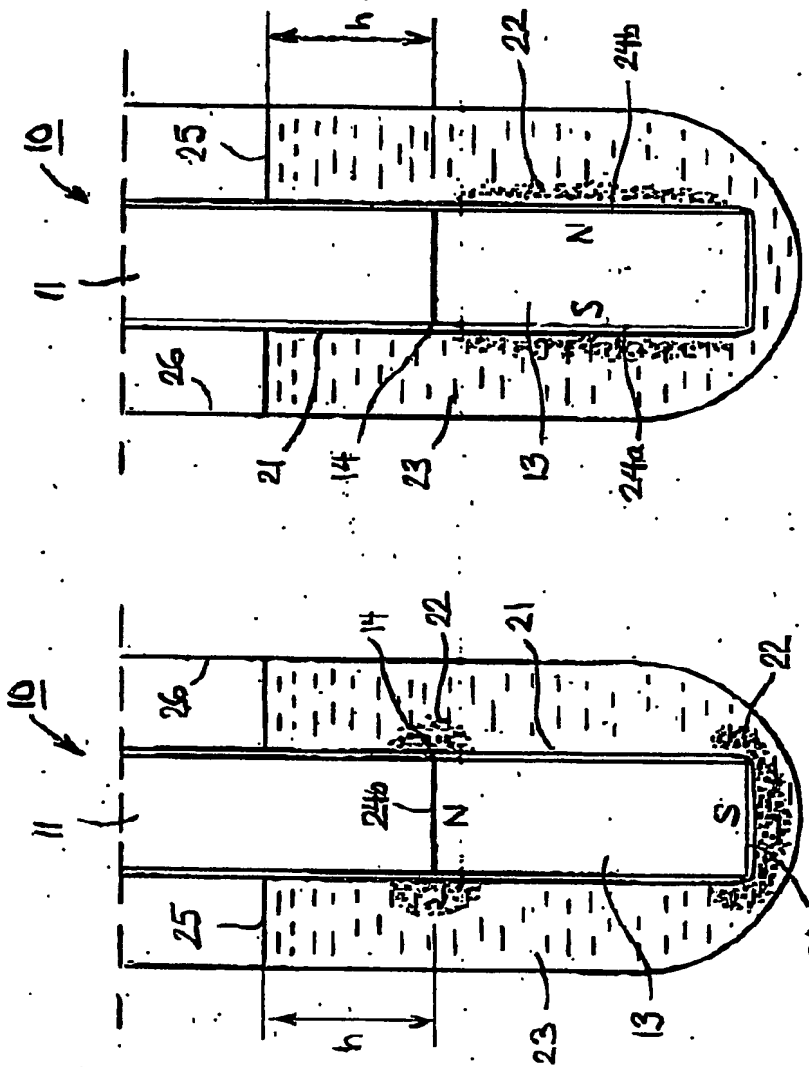


FIG. 3B

FIG. 3A

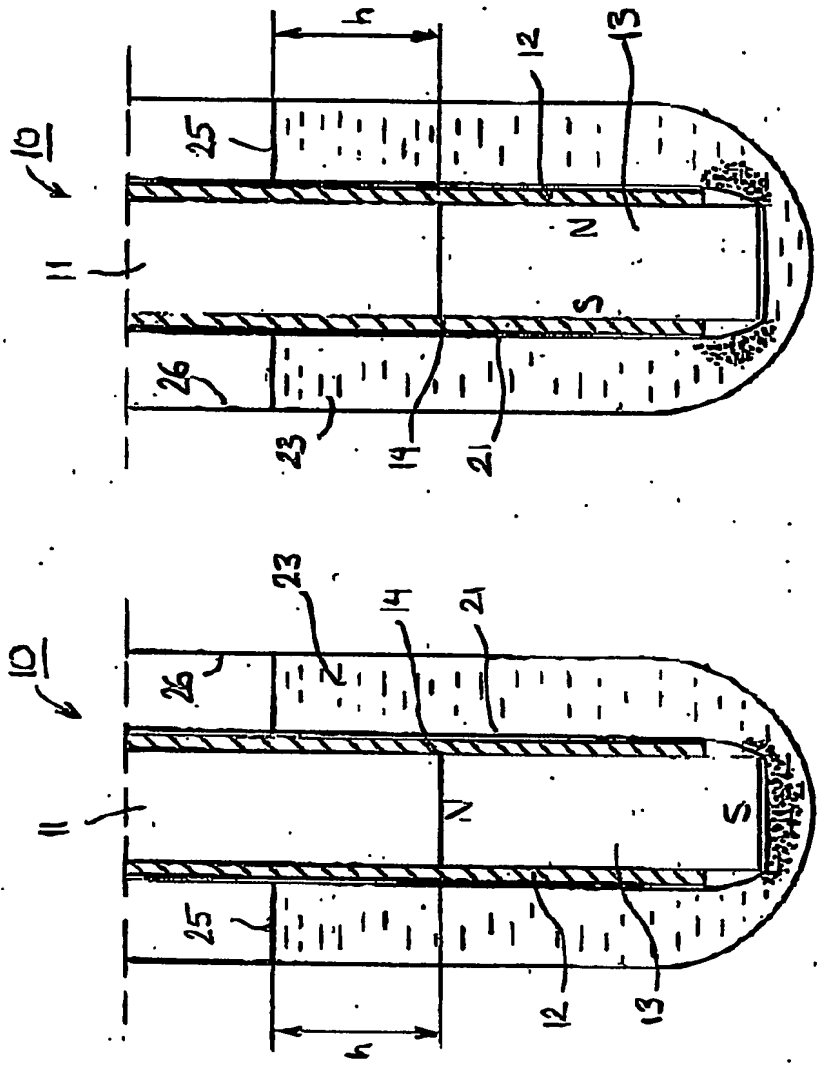


FIG. 4B

FIG. 4A

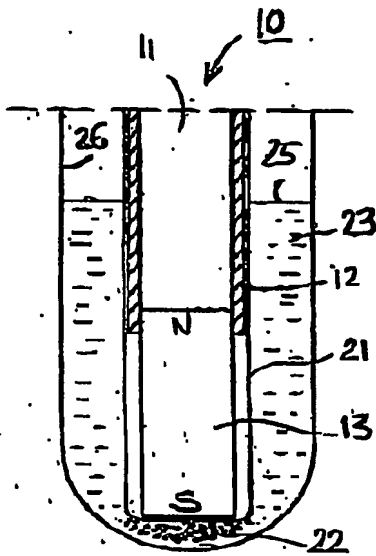


FIG. 5A

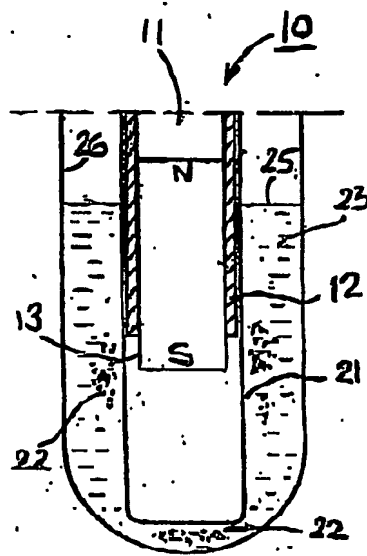


FIG. 5B

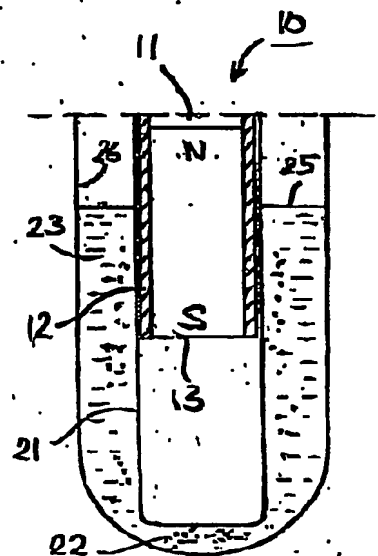


FIG. 5C

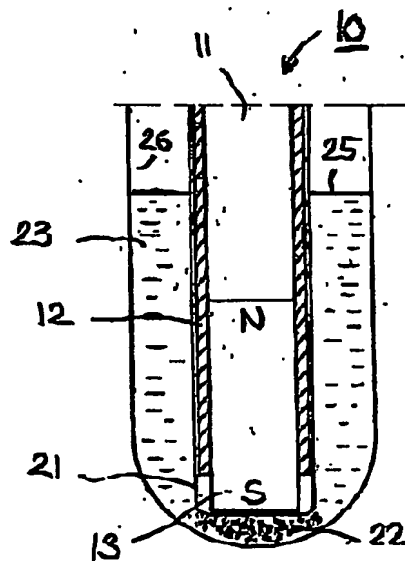


FIG. 5D

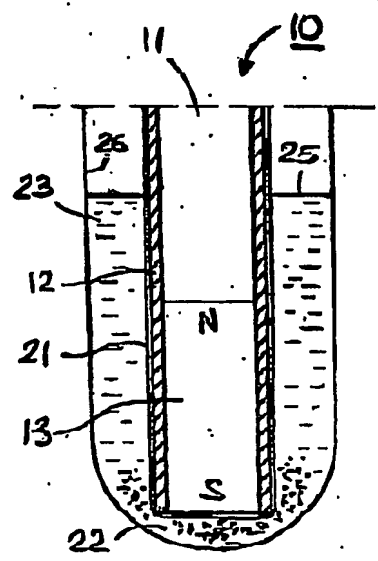


FIG. 5E

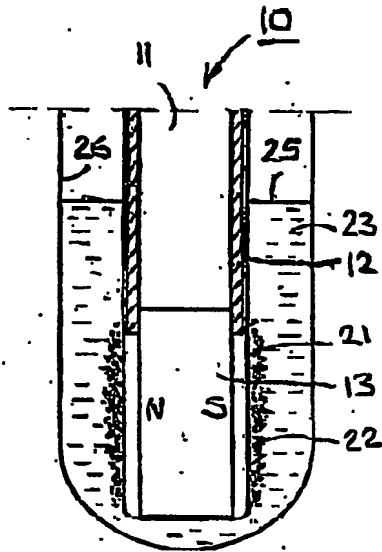


FIG. 6A

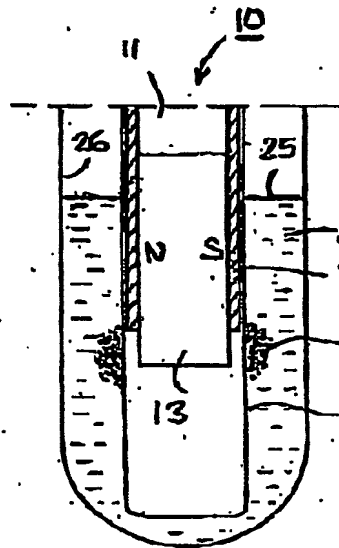


FIG. 6B

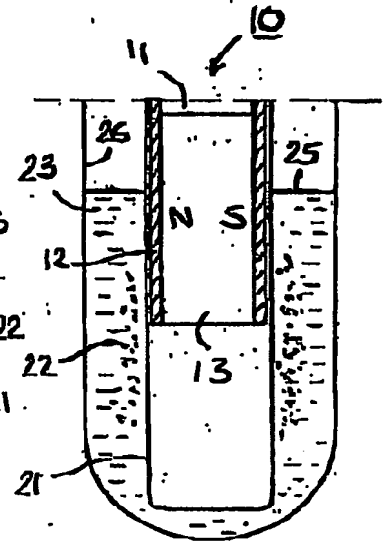


FIG. 6C

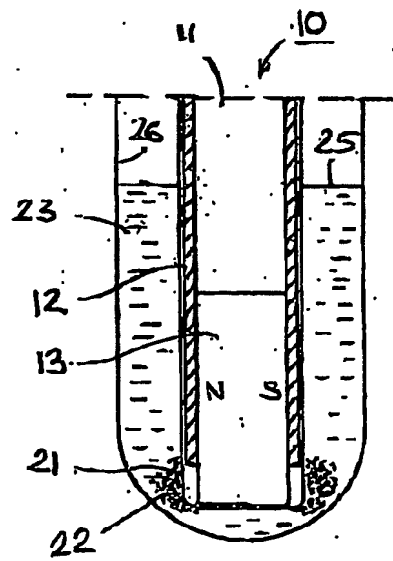


FIG. 6D

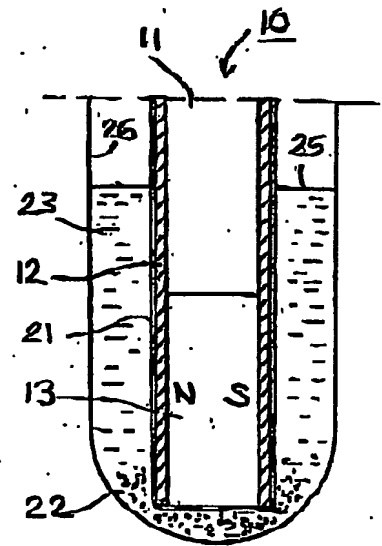


FIG. 6E

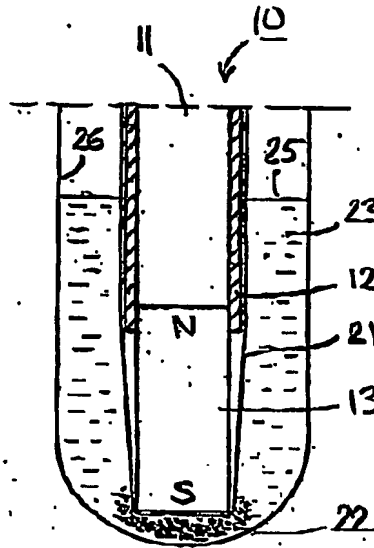


FIG. 7A

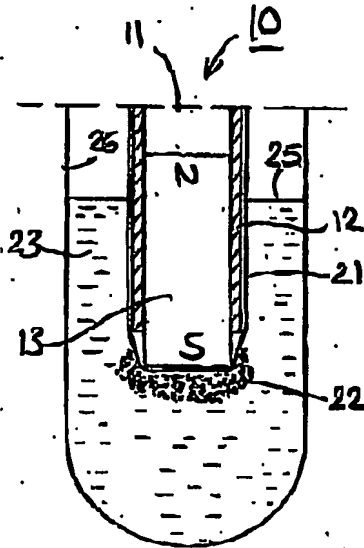


FIG. 7B

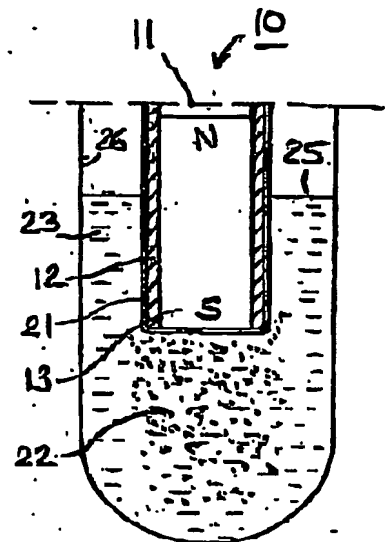


FIG. 7C

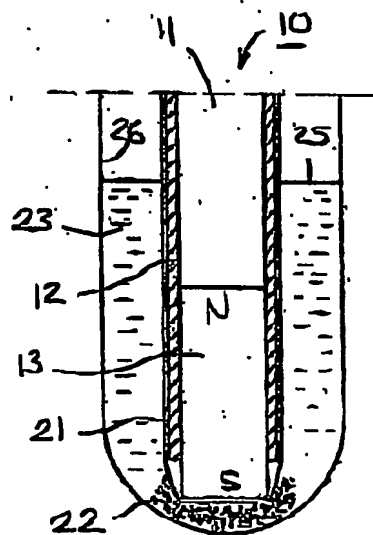


FIG. 7D

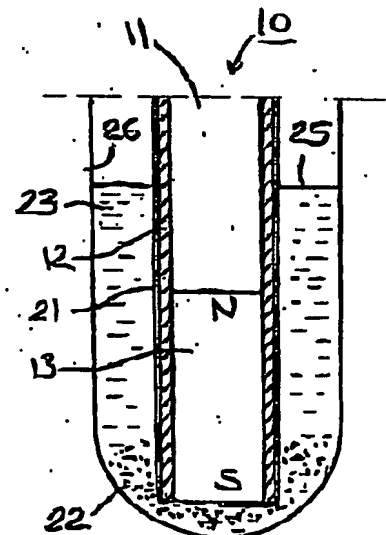


FIG. 7E



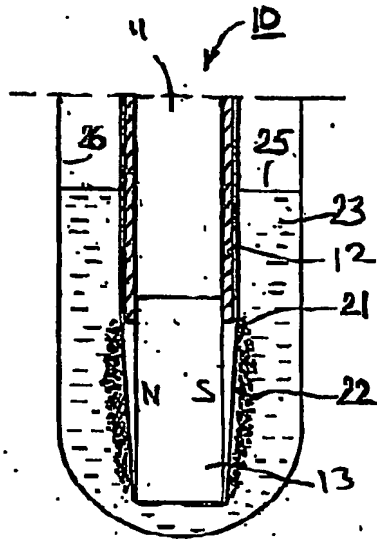


FIG. 8A

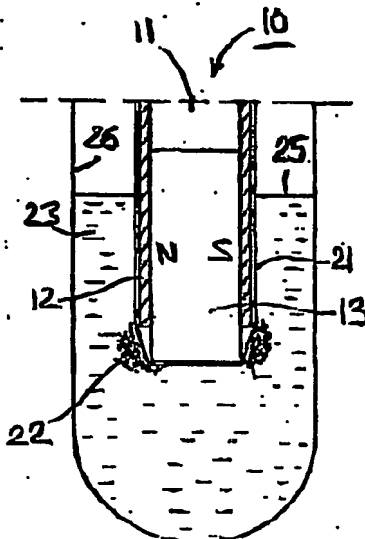


FIG. 8B

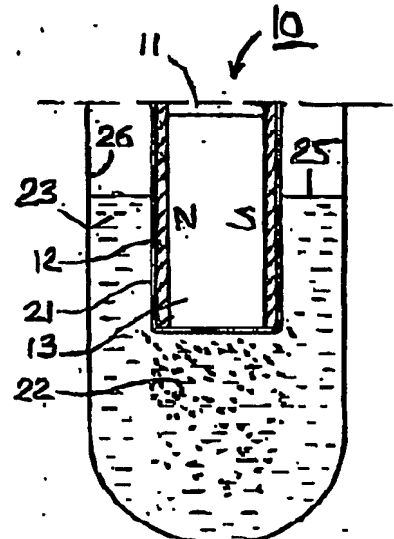


FIG. 8C

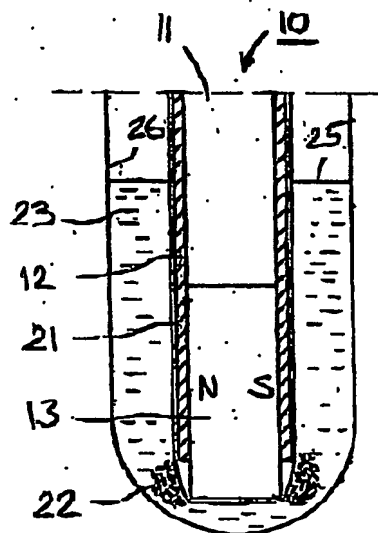


FIG. 8D

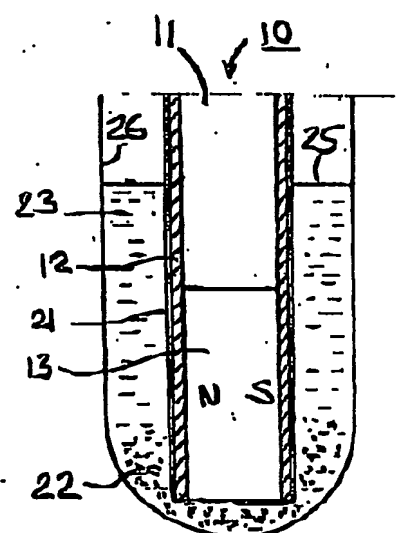


FIG. 8E

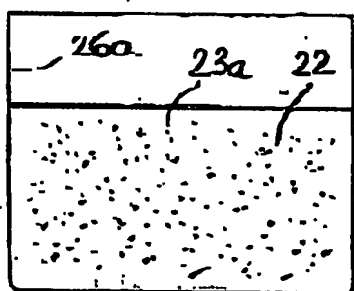


FIG. 9A

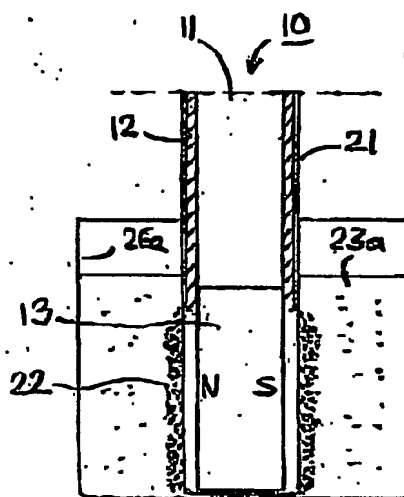


FIG. 9B

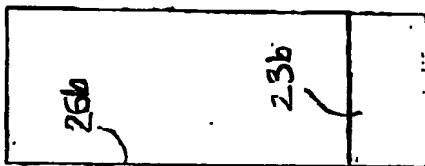


FIG. 9C

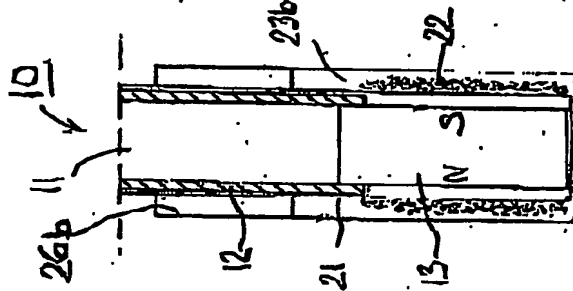


FIG. 9D

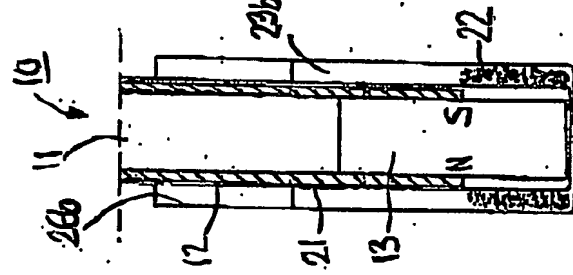


FIG. 9E

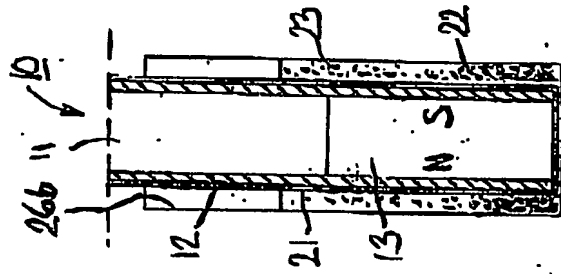


FIG. 9F

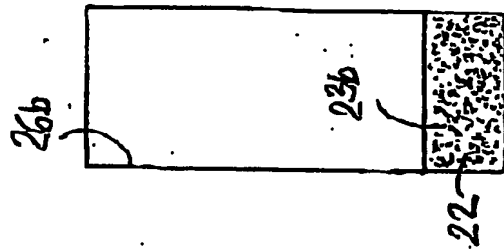
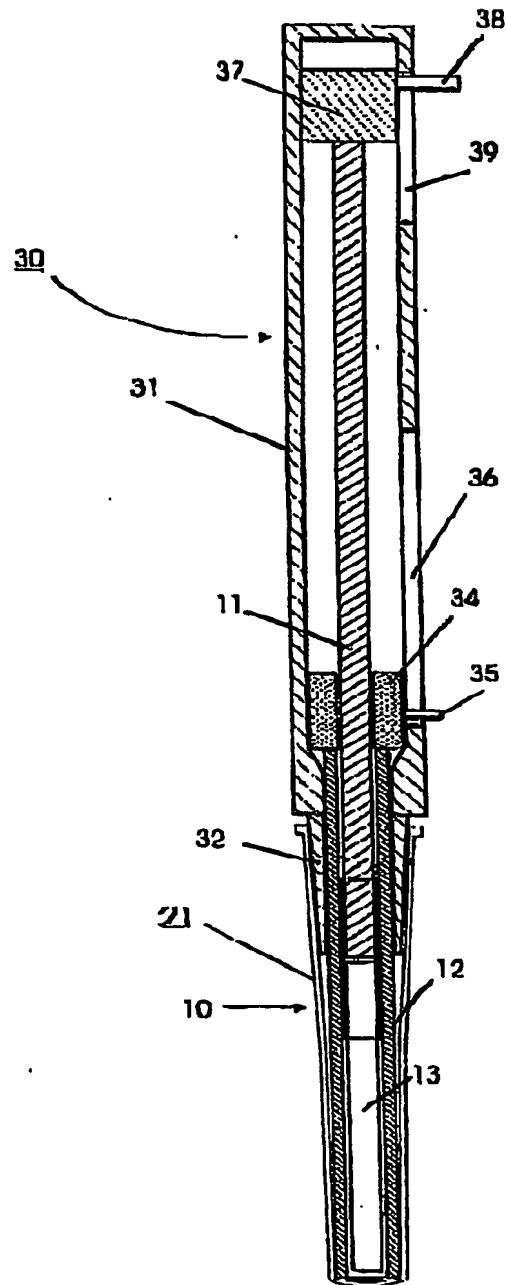


FIG. 9G

**Fig. 10**

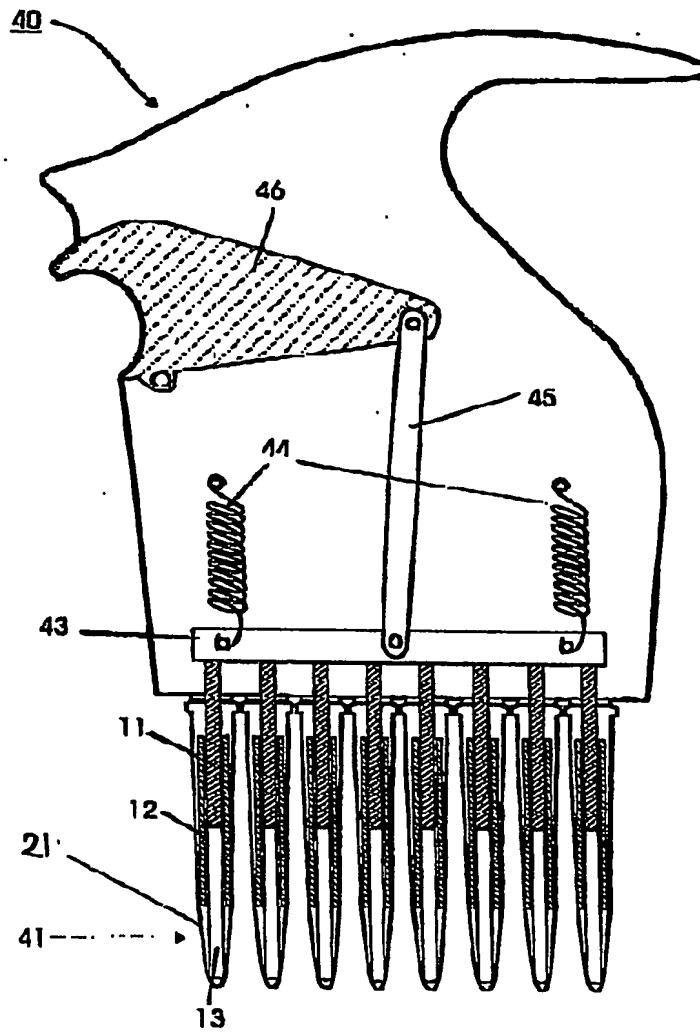


Fig. 11

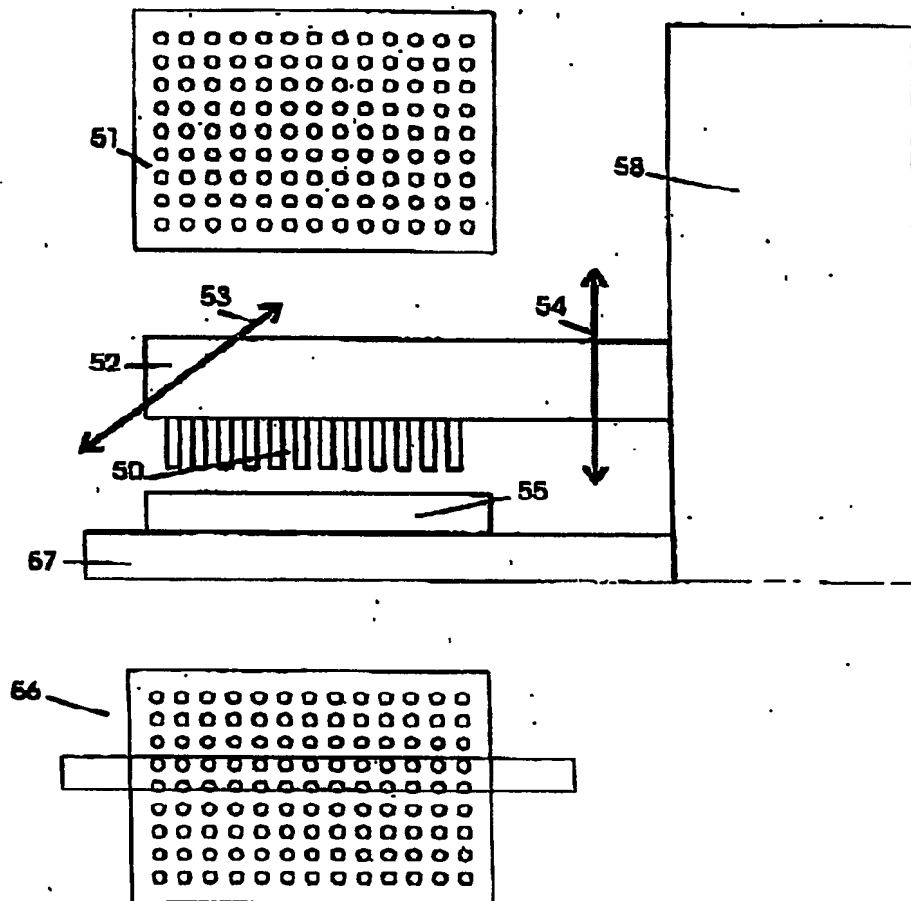


Fig. 12

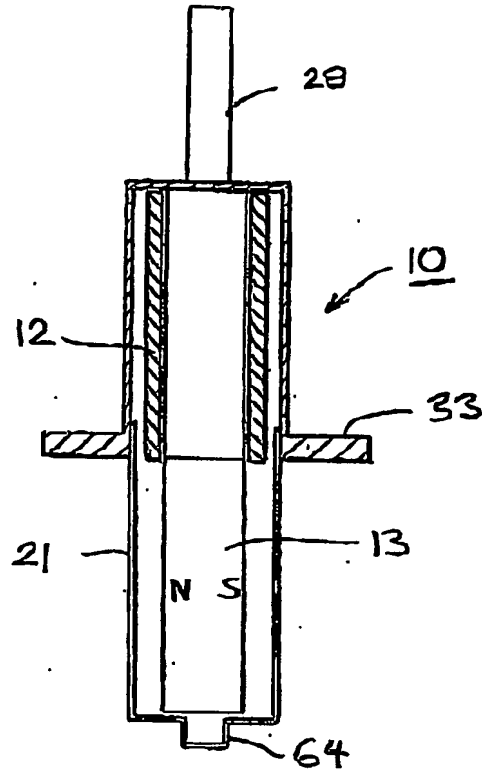


FIG. 13

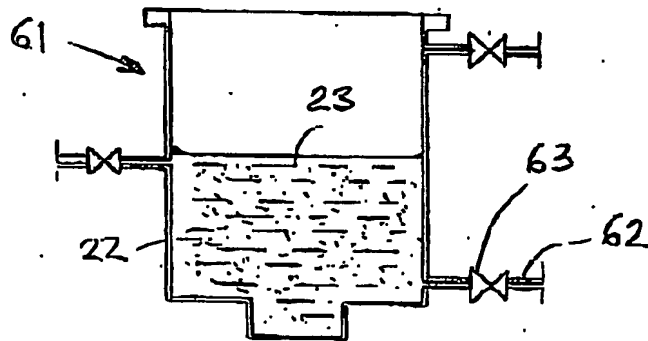


FIG. 14

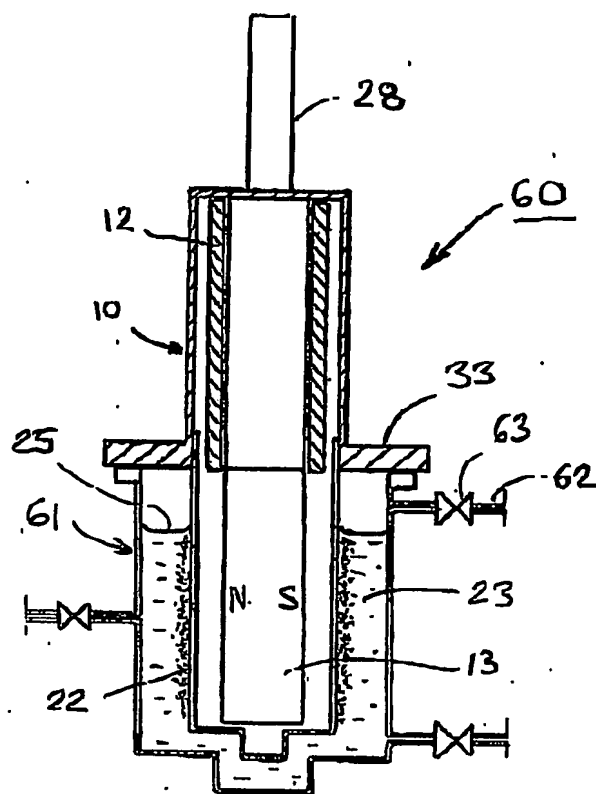


FIG. 15

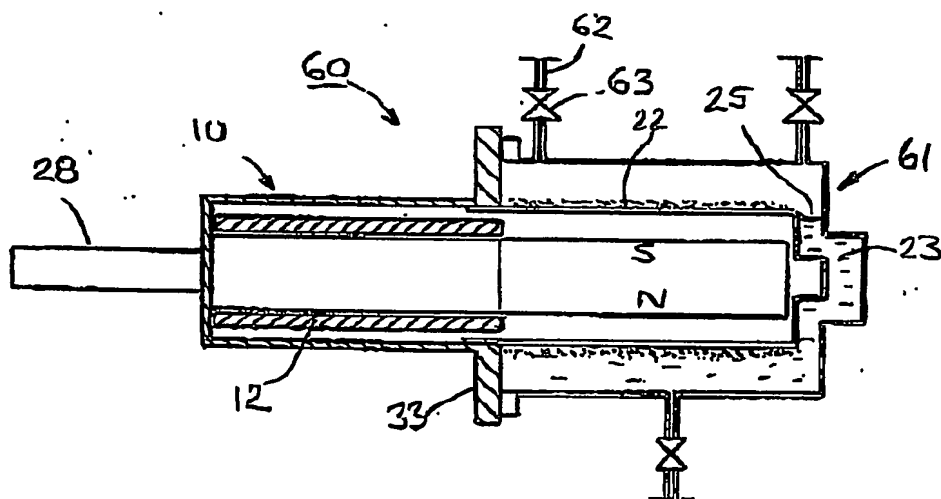


FIG. 16



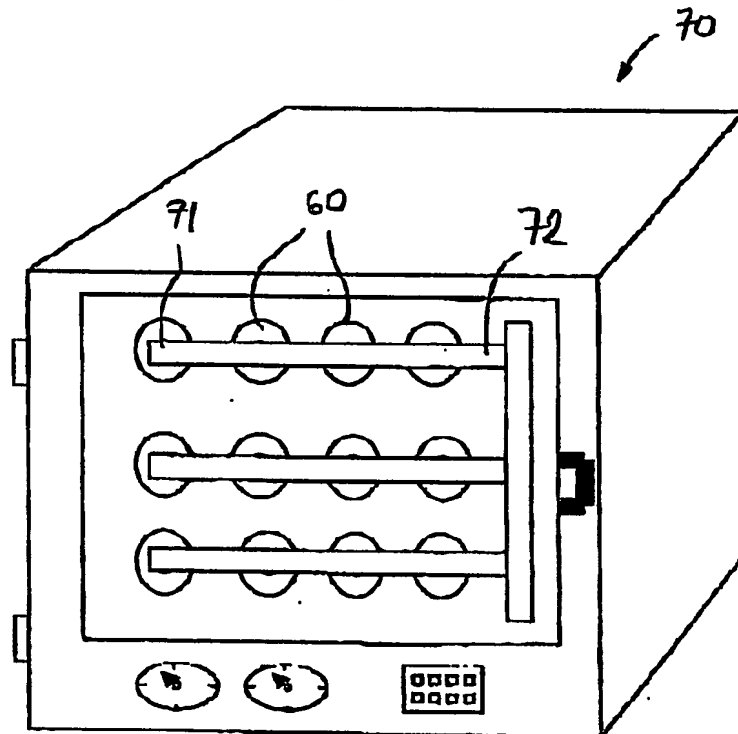


FIG. 17

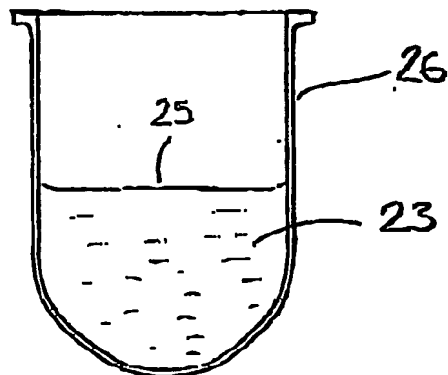


FIG. 18

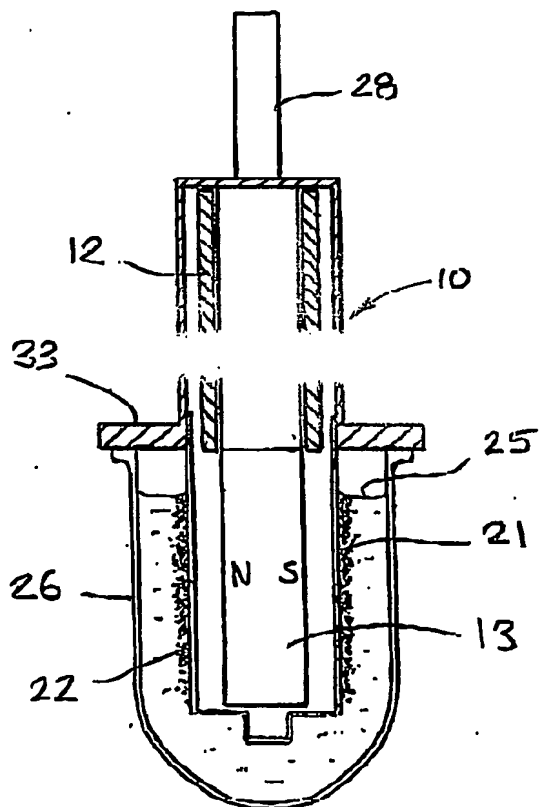


FIG. 19

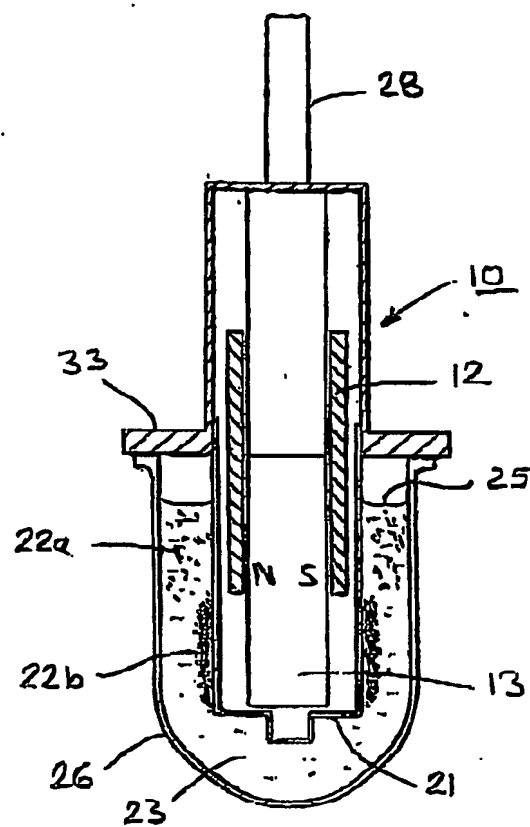


FIG. 20

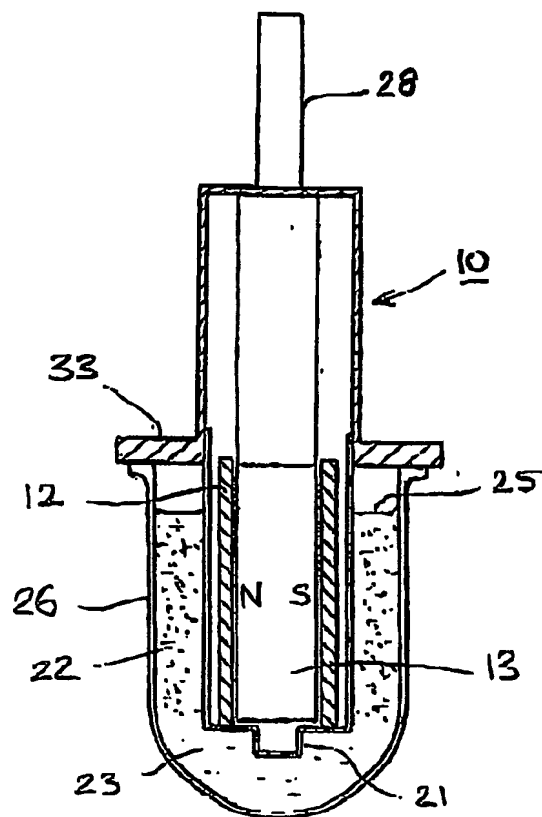


FIG. 21

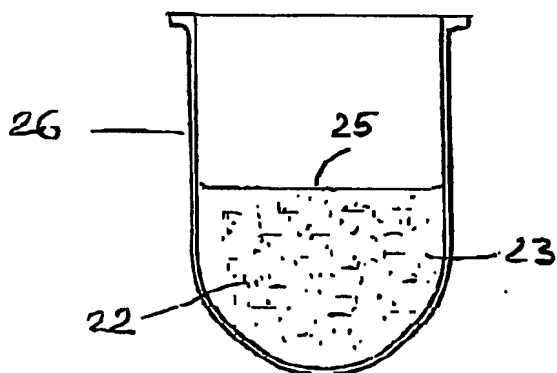


FIG. 22

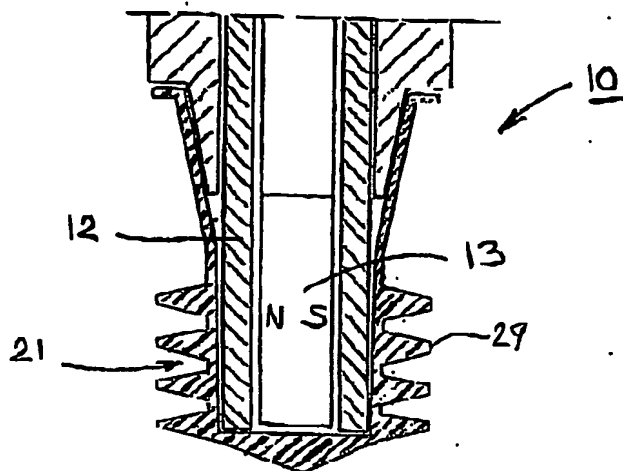


FIG. 23

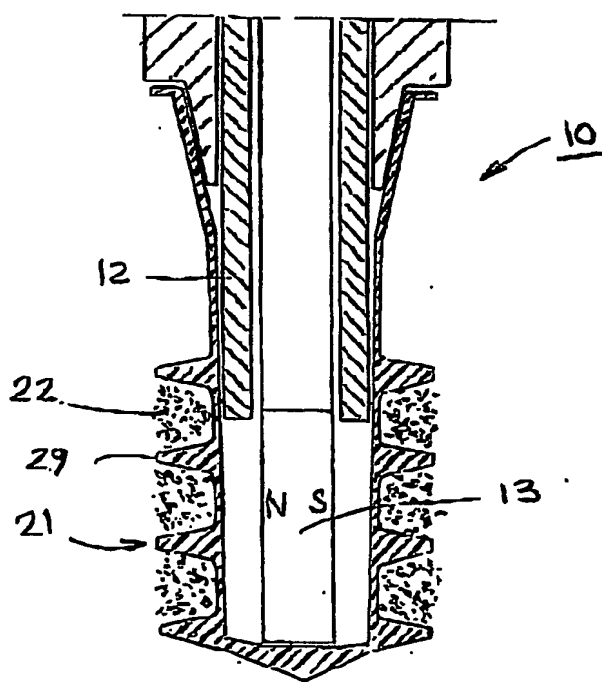


FIG. 24

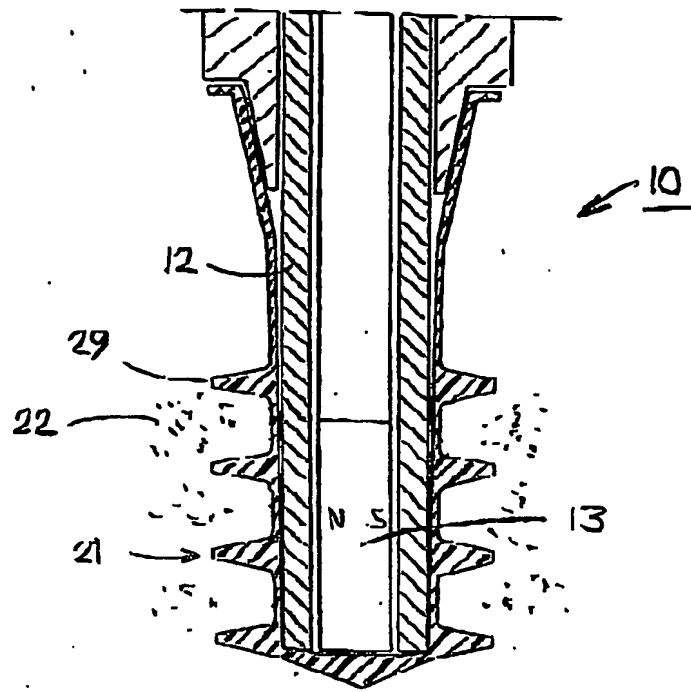


FIG. 25

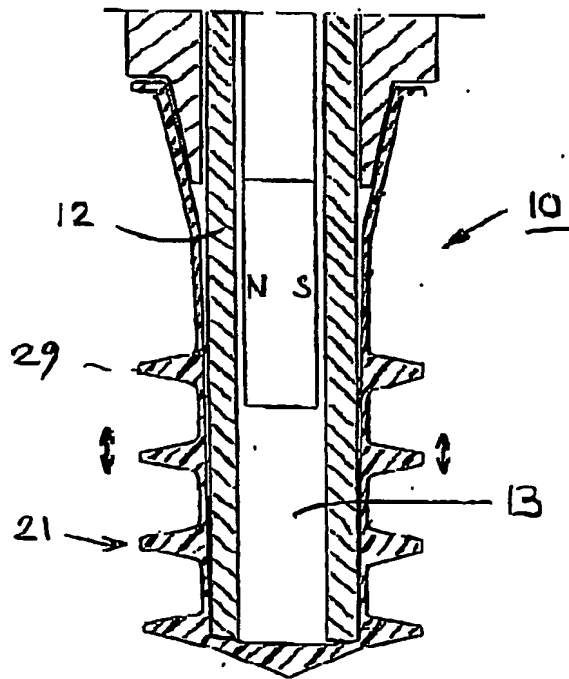


FIG. 26

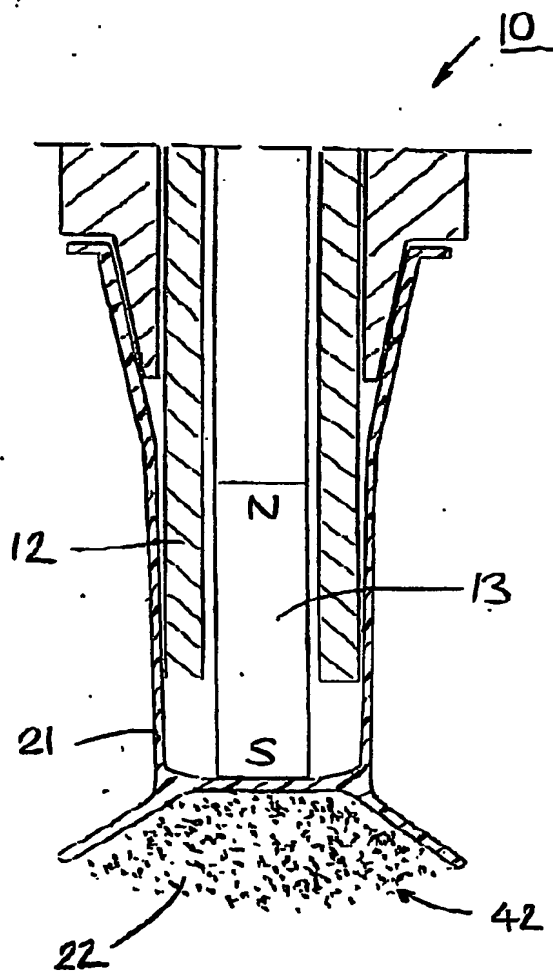
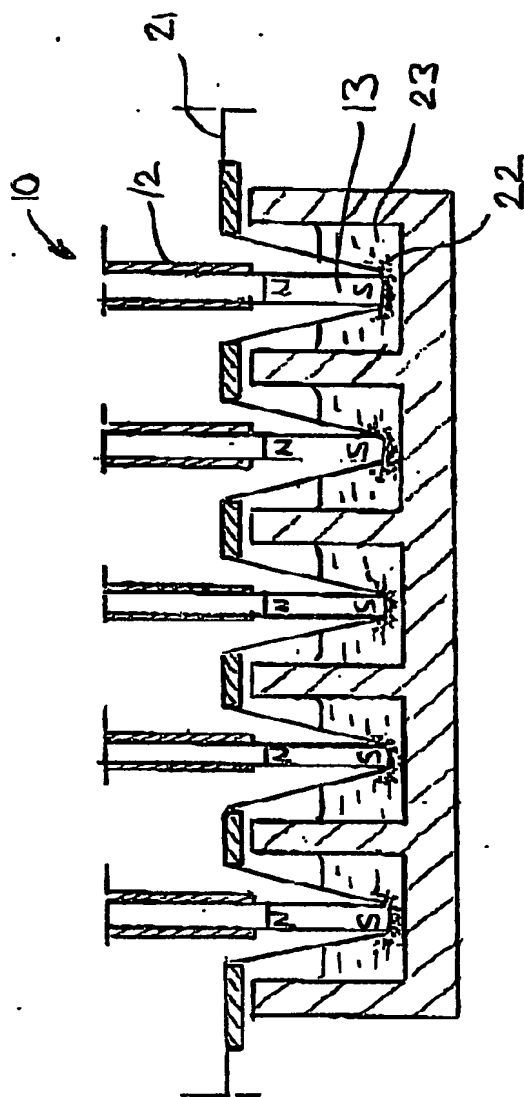
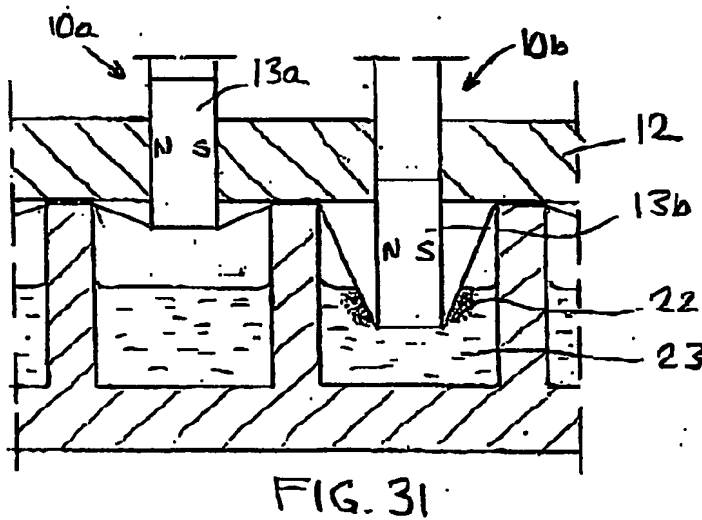
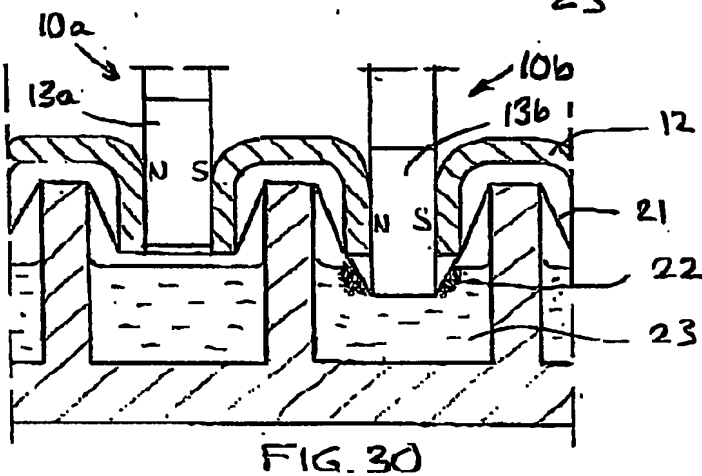
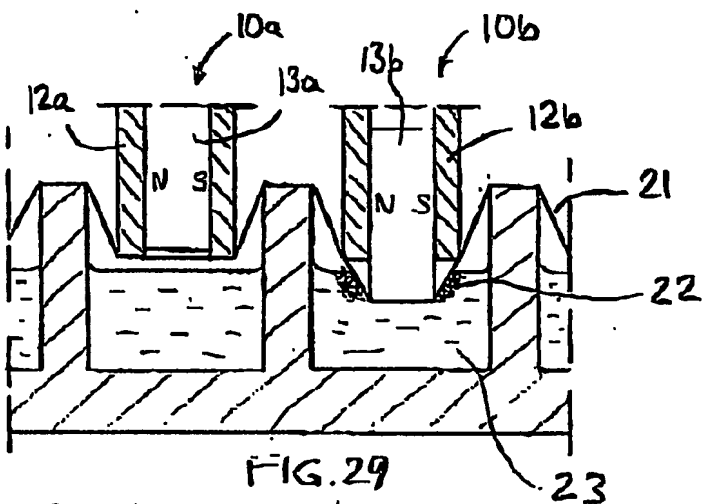


FIG. 27







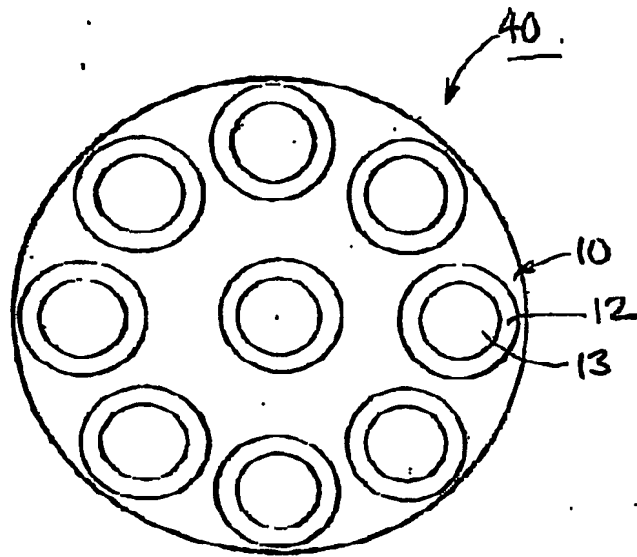
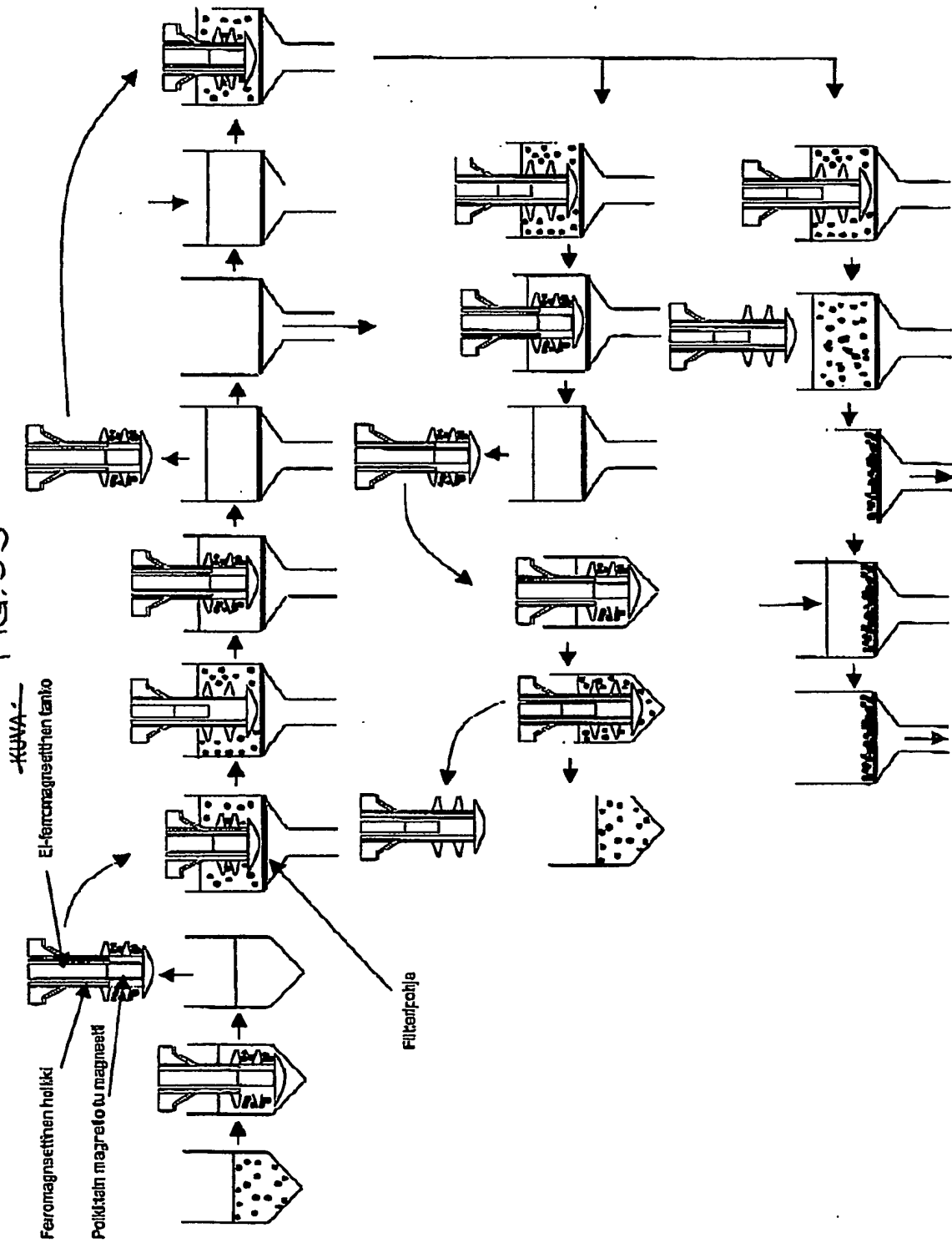
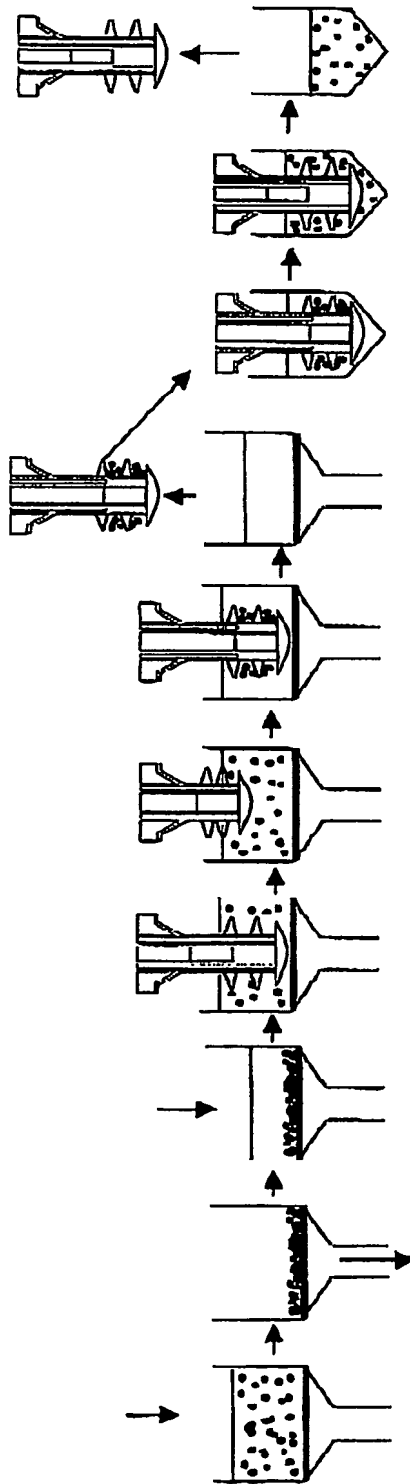


FIG. 32

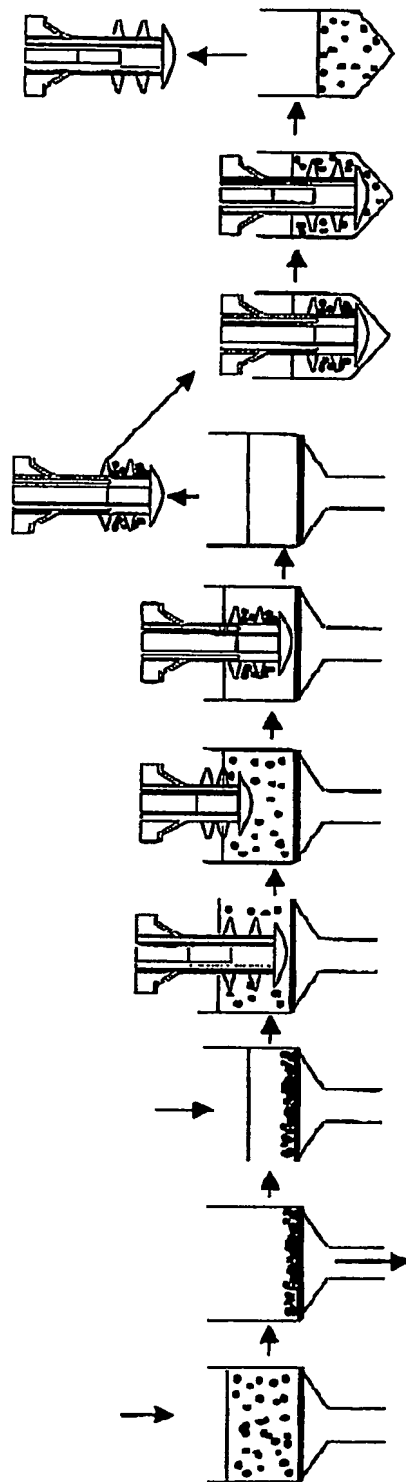
FIG. 33

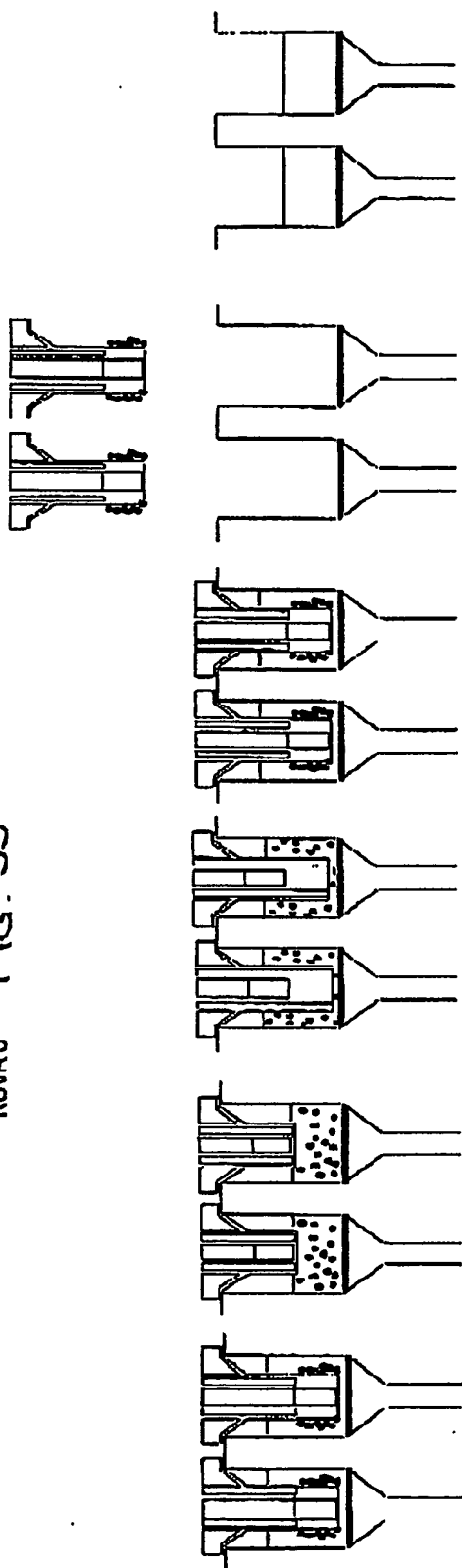


KUVA 2  
FIG. 34



~~KUVA 2~~ FIG. 34





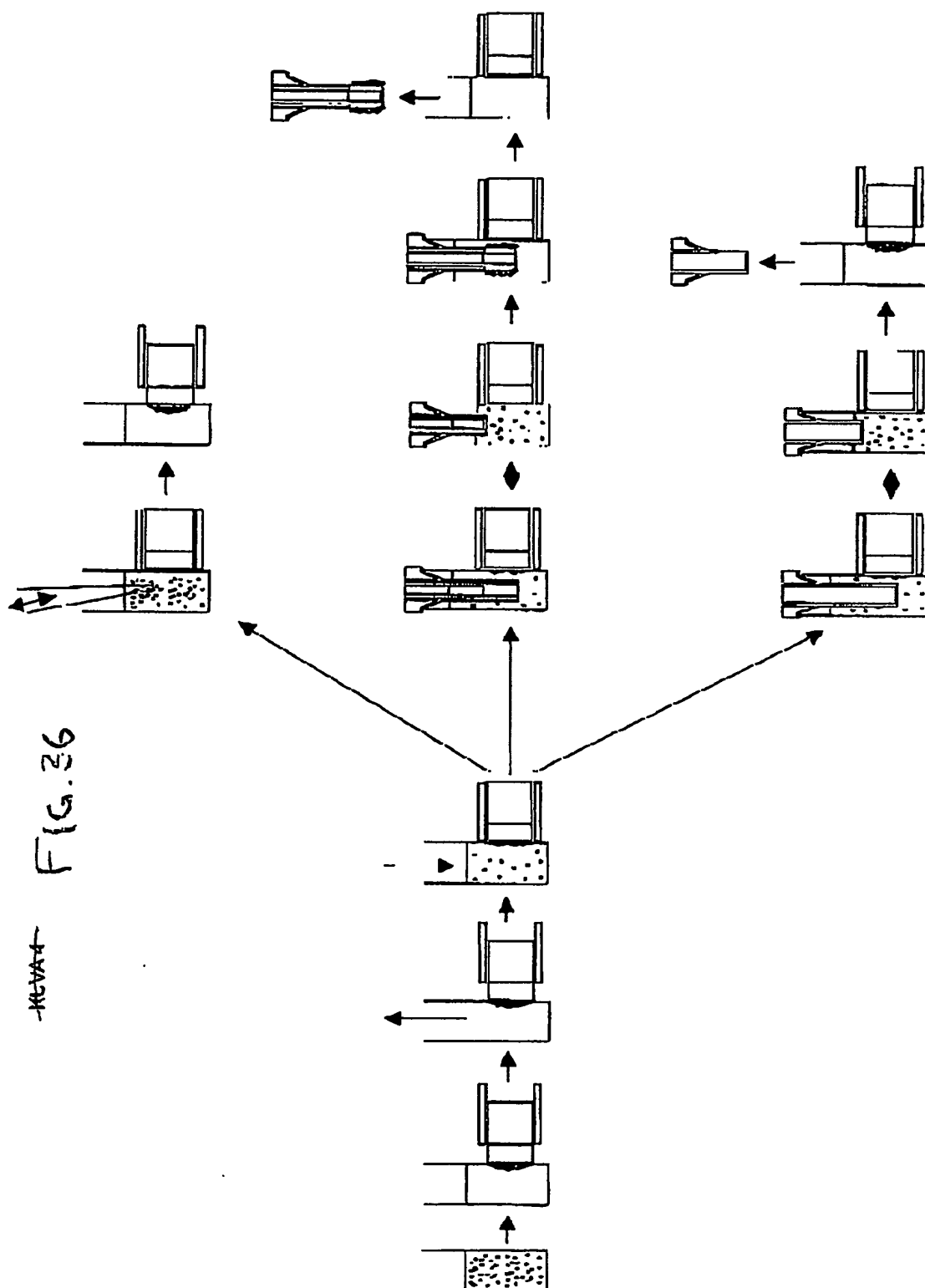
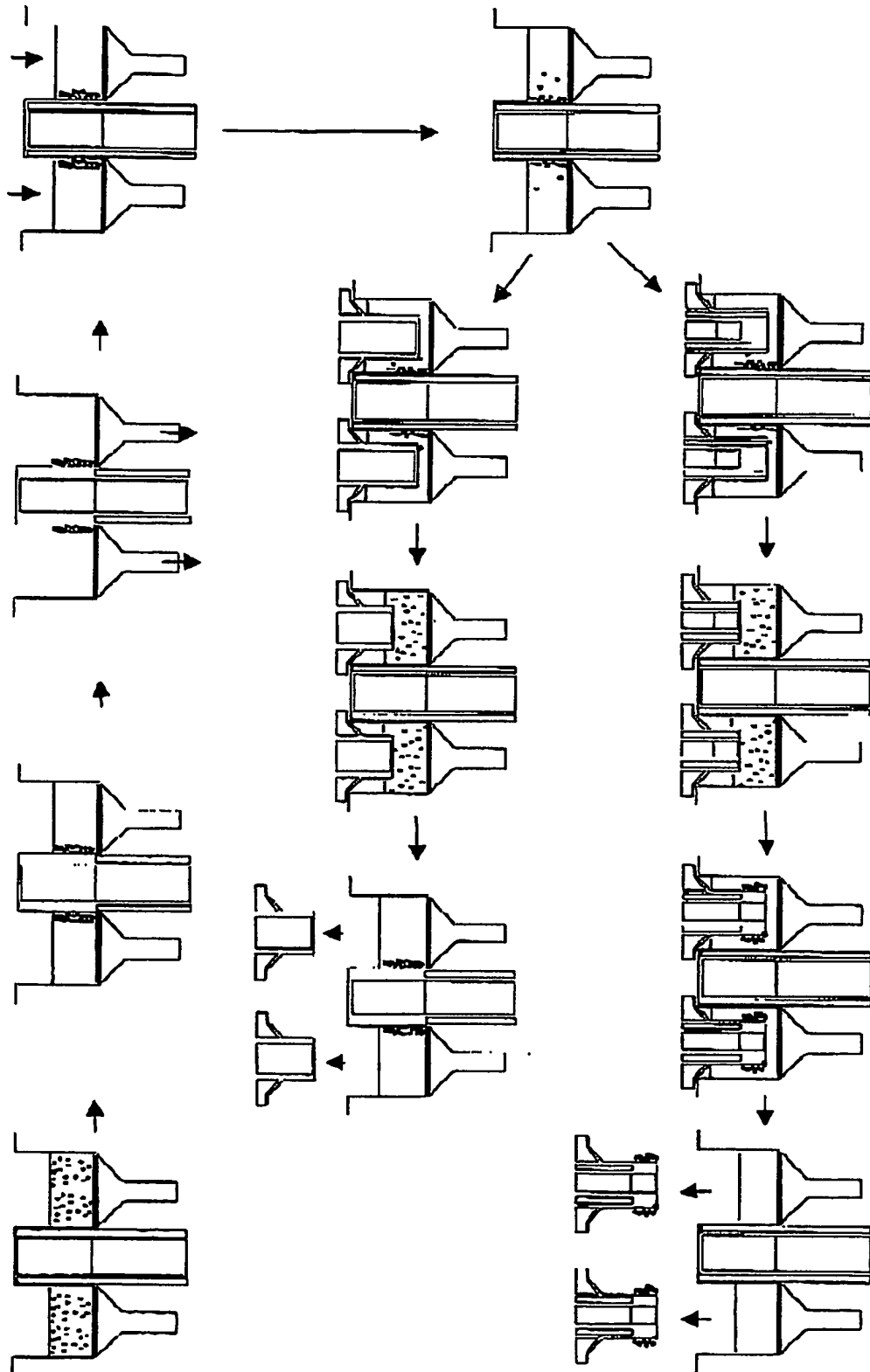


FIG. 37

KUVA 5





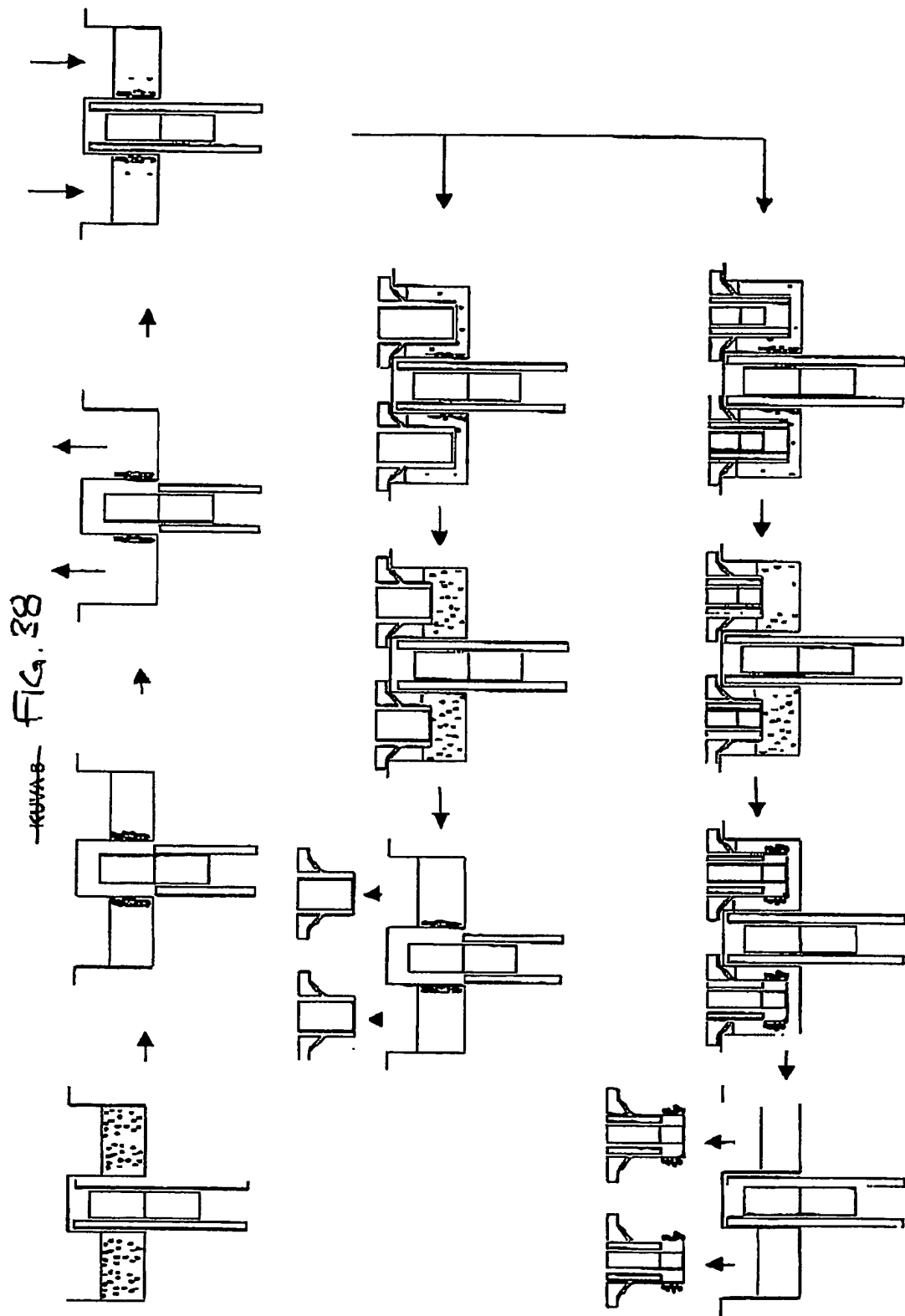


FIG. 29

KUVAT

